

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

POUR

N°
458

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Jean COTTET

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris
Né à Paris le 20 Décembre 1905

UNE NOUVELLE TECHNIQUE

DE

DOSAGE DES SELS BILIAIRES

DANS LE SANG

SES RÉSULTATS CLINIQUES

Président : M. LOEPER, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Jean COTTET

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris
Né à Paris le 20 Décembre 1905

UNE NOUVELLE TECHNIQUE
DE
DOSAGE DES SELS BILIAIRES
DANS LE SANG
SES RÉSULTATS CLINIQUES

Président : M. LOEPER, Professeur

PARIS
LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1935

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale.....	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie.....	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFENEAU.
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale.....	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée.....	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	LOEPER.
	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.....	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale.....	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements.....	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	PROUST.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
	MULON.
Professeurs sans chaire	OLIVIER.
	VERNE.
	MOCQUOT.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

BÉNARD (Henri) . Pathologie médicale.
 BERNARD Étienne. Pathologie médicale.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BULLIARD..... Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHEVALLIER Pathologie médicale.
 DOGNON..... Physique.
 FEY Urologie.
 GALLIARD..... Parasitologie.
 GASTINEL..... Bactériologie.
 DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie
 chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 GIROUD..... Histologie.
 HAGUENAU Pathologie médicale.
 HALPHEN..... Oto-rhino-laryngologie.
 HAZARD Pharmacologie.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LABBÉ (Henri) ... Chimie biologique.
 LACOMME Obstétrique.

MM.

LANTUÉJOUL ... Obstétrique.
 LAROCHE (Guy) . Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 M^{lle} J. LÉVY..... Pharmacologie.
 LÉVY-VALENSI .. Neurologie et Psychiâtrie
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET... Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING..... Anatomie pathologique.
 PETIT-DUTAILLIS Pathologie chirurgicale.
 PIÉDELIÈVRE... Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RICHEL Physiologie.
 SANNIÉ..... Chimie biologique.
 SÈNÈQUE..... Pathologie chirurgicale.
 TROISIER Pathologie expérimentale
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.
 J. BEZANÇON... Hydrologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT. Physiologie.

MM.

LEROUX..... Anatomie pathologique.
 NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
 ZIMMERN..... Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

MM.		MM.	
ABRAMI	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale.
ALAJOUANINE ..		BROCQ.....	
AUBERTIN		CADENAT.....	
BRULÉ		GATELLIER	
CHABROL.....		HEITZ-BOYER...	
CHIRAY		MOURE	
DONZELOT		QUENU	
DUVOIR.....		SCHWARTZ.....	
LIAN		VELTER	
PASTEUR - VALLERY - RADOT			
SÉZARY			
MM.			
ECALLE	} Clinique obstétricale.		
GUÉNIOT			
LE LORIER.....			
LÉVY-SOLAL			
METZGER			

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.
FREY.....	Stomatologie.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

MONSIEUR LE DOCTEUR JULES COTTET

Ancien interne des hôpitaux de Paris.

A MON BEAU-FRÈRE

MONSIEUR LE DOCTEUR JACQUES DECOURT

Médecin des Hôpitaux de Paris.

A MES COUSINS ET COUSINE

LES DOCTEURS HENRI ET SUZANNE ERNST

Anciens internes des Hôpitaux de Paris

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR LOEPER

Professeur de Clinique médicale

Membre de l'Académie de Médecine, Médecin de l'Hôpital Saint-Antoine

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Stage

- 1924-25 M. LE PROFESSEUR A. GOSSET.
M. LE PROFESSEUR F. WIDAL (*in memoriam*).
M. LE DOCTEUR ROBERT MONOD.

Externat

- 1926 M. LE DOCTEUR GASTON LION.
1927 M. LE DOCTEUR E. ENRIQUEZ (*in memoriam*).
M. LE DOCTEUR JEAN HALLÉ.

Provisariat

- 1928 M. LE DOCTEUR LOUSTE (*in memoriam*).
M. LE DOCTEUR MILIAN.
M. LE DOCTEUR JULES RENAULT.
M. LE DOCTEUR CLAISSE.

Internat bénévole

- M. LE PROFESSEUR MAURICE VILLARET.

Internat

- 1931 M. LE DOCTEUR HEUYER.
M. LE DOCTEUR BENSAUDE.
1932 M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ET. CHABROL.
1933 M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. BRULÉ.
1934 M. LE DOCTEUR CH. LAUBRY.

A MES CONFÉRENCIERS

MM. LES DOCTEURS DUMAS, HILLEMAND, RACHET,
PELLISSIER, SEILLÉ ET PETRIGNANI

A MM. LES DOCTEURS

JULES PERNET, GASTON DURAND, CARRIÉ,
HILLEMAND, OURY, MAXIMIN, BOLTANSKI,
DANIEL ROUTIER, WALSER

A. M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ JUSTIN BEZANÇON

A MON AMI ET CAMARADE DE TRAVAIL

JEAN-CLAUDE RUDLER

A MON AMI LE DOCTEUR B. KRITCHEVSKY

INTRODUCTION

Lorsque, il y a trois ans, nous avons eu l'honneur d'être l'interne de M. Et. Chabrol, il nous conseilla d'étudier le problème des acides biliaires du sang. Lui-même avait proposé dès 1920, avec MM. Gilbert et H. Benard, une méthode cherchant à évaluer la cholalémie ; malheureusement leur procédé ne pouvant déceler que les cholalémies dépassant 0 gr. 100 $\frac{o}{oo}$ n'eut, de ce fait, qu'un emploi restreint. Depuis aucune méthode plus sensible n'a vu le jour. C'est ainsi que nous avons été amené à étudier, sous la direction de M. Et. Chabrol et avec les conseils de M. R. Charonnat un nouveau procédé de dosage. Nous allons l'exposer aujourd'hui sous le nom de réaction phospho-vanillique.

Puis nous avons appliqué cette réaction à l'étude clinique des malades. Beaucoup de nos cas ont été observés dans le service de M. Et. Chabrol ; notre maître a quotidiennement suivi l'élaboration de ce travail ; non seulement il nous a fait bénéficier de sa grande expérience mais encore il n'a pas craint de passer avec nous de nombreuses heures au laboratoire. Qu'il trouve ici tous nos sentiments de respectueuse reconnaissance et qu'il nous permette de lui dire quel souvenir durable nous garderons de ces heures qu'il a su rendre à la fois si instructives et si agréables.

L'année suivante nous avons eu l'honneur d'être l'interne de M. Brulé ; nous nous félicitons que nos recherches aient été consacrées à un sujet auquel il avait si largement contribué en apportant la notion des ictères dissociés ; nous pûmes ainsi bénéficier, dans la continuation de notre travail, des précieux conseils qu'il voulut bien nous prodiguer, nous montrant ainsi un intérêt pour lequel nous ne saurions lui être assez reconnaissant.

Pendant notre quatrième année d'Internat que nous avons passée dans son service, M. Laubry a bien voulu s'intéresser à cette thèse et même nous en faciliter la continuation. Nous savons tout ce que nous devons à son enseignement lumineux et nous avons à cœur de lui dire combien nous avons été profondément touché de l'affection si paternelle qu'il n'a cessé de nous témoigner.

Nous avons eu la bonne fortune de trouver en M. Charonnat le chimiste autorisé que l'on sait ; il a bien voulu nous faire bénéficier dans la partie technique de nos recherches de sa grande compétence. Nous tenons à lui dire ici l'expression de nos sentiments reconnaissants.

*
* *

Les maîtres qui nous ont facilité ce travail ne nous font pas oublier ceux qui nous ont accueilli pendant notre première année d'internat. C'est pour nous un bien agréable témoignage de reconnaissance de dire à M. Heuyer tous nos sentiments d'admiration et de respect. M. Bensaude sait quels sentiments de respectueuse et profonde affection nous avons pour lui depuis tant d'années ; le temps, trop court, que nous avons eu le bonheur de passer auprès de lui n'a fait que les augmenter.

*
* *

Que tous les maîtres et les collègues qui ont bien voulu nous permettre dans leur service l'examen des malades susceptibles de nous être utiles, veuillent trouver ici l'expression de nos sentiments de gratitude.

PREMIÈRE PARTIE :

HISTORIQUE DU DOSAGE DES ACIDES BILIAIRES DANS LE SANG

MÉTHODES ET RÉSULTATS

Les difficultés présentées par le dosage des acides biliaires dans le sang tiennent surtout à la faible teneur du produit à doser dans un milieu extrêmement complexe.

La multiplicité des corps compris sous le terme d' « acides biliaires » viendrait encore compliquer singulièrement le problème si, en pratique, on ne limitait le champ des investigations en évaluant seulement les acides de la série cholalique (acides glycocholique et taurocholique). A eux seuls, les glycocholates et taurocholates de soude représentent au point de vue pondéral, l'essentiel des sels biliaires. Les autres acides biliaires, ceux de la série désoxycholique (acide glycocholéinique), et de la série lithocholique (acide lithocholique) en s'en tenant à la bile humaine, pour intéressants qu'ils soient, interviennent dans une proportion assez faible pour qu'on puisse à la rigueur les négliger (en première estimation tout au moins, et dans l'état actuel de la question).

Il devient ainsi, logique d'évaluer globalement les sels biliaires en « acide cholalique », noyau commun des deux acides biliaires fondamentaux.

*
* *

Avant d'exposer les méthodes qui ont été appliquées au sang, et pour situer le problème, nous nous proposons de présenter très rapidement, dans un tableau d'ensemble, les méthodes générales de recherche des sels biliaries susceptibles d'être utilisées pour le dosage de ces substances. Nous nous inspirerons dans cette étude d'un travail que nous avons écrit en collaboration avec R. J. Mion.

CHAPITRE PREMIER

VUE D'ENSEMBLE SUR LES MÉTHODES GÉNÉRALES DE RECHERCHE DES SELS BILIAIRES (1)

I. — Méthodes extractives

A) Les unes se suffisent à elles-mêmes : ce sont les méthodes pondérales.

« Le mode idéal de dosage consisterait à isoler quantitativement les sels biliaires et à les peser » (Cuny). Mais l'extraction et la purification à partir des milieux biologiques comportent des difficultés techniques importantes, et les sels biliaires (l'acide cholalique dans certains cas) ainsi isolés et desséchés jusqu'à poids constants sont d'une pureté toute relative. Même avec les meilleures méthodes proposées, la purification n'est possible qu'avec une perte assez considérable de substance.

Si l'on veut, d'autre part, éviter les prises d'essai par trop considérables, une telle méthode gravimétrique n'est applicable qu'aux milieux contenant des quantités de sels biliaires relativement importantes. Pratiquement, seule la bile présente ce cas.

B) Pour les milieux contenant une proportion moins grande de sels biliaires, l'extraction ne constitue qu'un premier temps, à la suite duquel les sels biliaires sont remis en

(1) Dans ce premier chapitre qui n'est qu'une esquisse générale, nous ne pouvons, sans surcharger ce travail, donner les très nombreuses références qui s'y rapportent. Nous renvoyons plus particulièrement le lecteur, tant pour un exposé plus ample que pour la bibliographie, aux thèses de Bariéty et de Cuny.

solution, et dosés par une des méthodes décrites aux paragraphes suivants (généralement par une méthode colorimétrique).

Voici le principe de quelques moyens d'extraction qui ont été proposés pour les milieux biologiques (Meillère) :

1^o Séparation par des solvants neutres non miscibles à l'eau : acétate d'amyle, acétate d'éthyle.

2^o Dialyse à travers des sacs de collodion.

3^o Adsorption par une poudre insoluble : noir animal.

4^o Précipitation-adsorption par les précipités albumineux : ovalbumine, caséine.

5^o Précipitation par saturation du liquide au moyen d'un sel neutre : sulfate d'ammonium, sulfate de magnésie.

6^o Précipitation par un sel métallique : sel de plomb, sel ferrique (La précipitation par le chlorure ferrique n'intéresse théoriquement que le glycocholate).

II. — Méthodes basées sur les propriétés physiques des acides biliaires

Nous ne celons pas ce que la classification des méthodes a de factice : certaines des méthodes dites extractives, notamment celles mettant à profit la solubilité des sels biliaires dans certains solvants, et celles comportant l'adsorption de ces sels par des poudres charbonneuses sont bien en effet basées sur les propriétés physiques des sels biliaires : mais nous avons ici plus particulièrement en vue deux propriétés physiques importantes de ces substances :

Les acides biliaires sont des corps à la fois optiquement actifs et tensio-actifs. On s'est inspiré de ces deux propriétés pour mettre en œuvre les méthodes suivantes :

A) MÉTHODE POLARIMÉTRIQUE

L'activité optique permet, par simple mesure polarimétrique de doser rapidement une solution d'un sel biliaire déterminé. Mais la méthode se complique si l'on se trouve en

présence d'un mélange de sels ayant chacun leur pouvoir rotatoire spécifique, comme c'est le cas en biologie. On peut pratiquer l'hydrolyse de ces sels et mesurer la déviation due à l'acide cholalique total (l'acide cholalique est dextrogyre, et en solution alcoolique : $\alpha_D = 34^{\circ}96$).

B) MÉTHODES BASÉES SUR LA MESURE DE LA TENSION SUPERFICIELLE

Les sels biliaires abaissent la tension superficielle des liquides dans lesquels ils sont introduits. Telle est du moins leur action lorsque le solvant ne contient pas de substance susceptible de troubler les résultats par interaction physique secondaire.

Cette baisse de la tension superficielle peut être appréciée, dans des conditions bien déterminées, par l'étalement et la chute de la fleur du soufre. Cette méthode, plus particulièrement mais non exclusivement appliquée à l'urine, constitue la classique réaction de Hay. Toutes les autres méthodes physiques susceptibles de mesurer la tension superficielle ont été utilisées.

La capillarité : on sait que la hauteur d'ascension du liquide dans un tube capillaire est directement proportionnelle à la tension superficielle, et donnée par une formule bien établie.

La stalagmométrie : pour des gouttes tombant de l'extrémité d'un même tube capillaire, le rapport des masses des gouttes est égal au rapport des tensions superficielles. On peut donc :

— soit peser un nombre déterminé de gouttes.;

— soit mesurer le nombre de gouttes correspondant à un volume déterminé (au compte-gouttes de Duclaux par exemple).

Dans les deux cas, il s'agit d'une mesure comparative : l'élément de comparaison étant l'eau distillée, dont on a fixé conventionnellement la tension superficielle à 1000.

Enfin la tension superficielle peut être mesurée directement par la méthode de l'arrachement. L'expérimentateur a le choix entre l'appareil de Lecomte du Nouÿ (tensiomètre)

le dispositif de Brinckmann et Van Damm (microbalance de torsion adaptée à un anneau de platine) ou celui de Goiffon (lame métallique suspendue au fléau de la microbalance magnétique de Jouan).

III. — Méthodes indirectes basées sur un dosage chimique de l'acide cholalique ou des corps qui lui sont combinés

L'acide cholalique ($C^{24}H^{40}O^5$) est combiné à deux amino-acides le glyocolle (CH^2-NH^2-COOH) et la taurine ($CH^2-NH^2-CH^2-SO^2OH$) dans les acides glycocholique et taurocholique.

L'hydrolyse de ces deux acides, pour donner leurs constituants, est relativement facile à réaliser à chaud en présence d'une base. Il en a été tiré un certain nombre de méthodes qui comportent toutes une hydrolyse alcaline des sels biliaires. Le clivage de ces sels étant réalisé, on pratique soit un dosage de l'acide cholalique, soit un dosage des amino-acides libérés.

A) DOSAGE DE L'ACIDE CHOLALIQUE TOTAL

Après chauffage en milieu alcalin de la solution contenant les acides biliaires, l'acide cholalique est isolé, et sa solution est dosée par une solution alcaline titrée, en présence de phtaléine (méthode de Jenke).

B) DOSAGE DES ACIDES-AMINÉS LIBÉRÉS PAR L'HYDROLYSE

Il peut être réalisé par l'une des trois méthodes suivantes :

1^o *Méthode gazométrique*, dont le type est la méthode de Van Slyke ; l'acide nitreux en présence des acides aminés donne un dégagement d'azote correspondant au double du volume d'azote aminé.

2^o *Méthode volumétrique*. — Les acides aminés sont dosés par la classique méthode au formol de Sørensen ; dans le

premier temps de cette formol-titration le groupement aminé se trouve bloqué et le dérivé méthylénique obtenu se comporte comme un acide énergique que l'on titre par acidimétrie.

3^o *Méthode colorimétrique.*

a) Soit selon la technique de O. Folin.

b) Soit selon la méthode de Harding et Mac Lean appliquée aux sels biliaires par Cuny.

C) DOSAGE PAR L'ÉVALUATION DU SOUFRE

Le dosage de la taurine (ou plus exactement de la fraction sulfurée des sels biliaires) peut être effectué, sans hydrolyse préalable, par une évaluation du soufre.

Dans un premier temps le soufre est minéralisé, puis l'acide sulfurique obtenu est précipité à l'état de sulfate de baryum, ou dosé par une autre méthode.

Associé à un dosage total des sels biliaires, cette méthode permet d'établir la proportion entre les acides biliaires sulfurés et les acides biliaires non sulfurés (en première approximation entre l'acide glycocholique et l'acide taurocholique).

IV. — Méthodes colorimétriques (1)

Citons rapidement *la réaction de Mylius* obtenue en ajoutant une solution décimale d'iode à une solution alcoolique d'acide cholalique.

Non seulement la réaction n'est donnée que par le seul acide cholalique, mais il ne s'agit pas strictement d'une réaction colorée : la coloration brune qui se produit est suivie d'une précipitation d'aiguilles microscopiques d'un jaune métallique à la lumière réfléchie, et bleues à la lumière transmise.

La réaction de Pettenkofer est la réaction classique et fondamentale des sels biliaires. Elle a été décrite par son

(1) Ces méthodes ont été étudiées dans la thèse de Tchi Lim Guirian et surtout dans le beau travail de Cuny.

auteur en 1844 sous la forme suivante : verser goutte à goutte dans le liquide étudié environ les deux tiers de son volume d'acide sulfurique de façon à ce que la température ne s'élève guère à plus de 50°. On ajoute ensuite 2 à 5 gouttes d'une solution aqueuse de saccharose au quart ou au cinquième. On agite, et il se développe une coloration violet-rouge.

Les variantes de la réaction de Pettenkofer sont nombreuses : Elles portent :

— soit sur le glucide : le saccharose a été remplacé par du glucose, de l'amidon, du glycogène, de l'insuline, du fructose. On substitue d'ailleurs souvent au glucide le furfural en solution aqueuse ou alcoolique.

— soit sur l'acide : substitution de l'acide phosphorique à l'acide sulfurique (Dreschsel).

La réaction de Jolles se fait en présence d'acide chlorhydrique concentré et d'une ou deux gouttes de solution de rhamnose à 5 ‰. A l'ébullition se produit une coloration rose, puis une fluorescence verte qu'accentue l'addition d'éther.

On a décrit plusieurs *réactions sulfo-vanilliques* :

— Ville et Derrien ajoutent à la solution des sels biliaires 3 gouttes de solution alcoolique de vanilline au cinquième et 10 cc. d'acide sulfurique au demi et maintiennent au bain-marie bouillant pendant une demi-minute environ. La coloration obtenue est rouge-groseille. Ces auteurs substituent aussi à la vanilline, l'aldéhyde anisique qui donne une teinte rose éosine.

— Meillère emploie le réactif de Ronceray (excès de vanilline dans l'acide sulfurique au demi). Vers 50-60°, il se développe une coloration rouge orangé qui vire au rouge-sang.

— Inouye et Itô mettent 3 centigrammes de vanilline dans le liquide à étudier. L'acide sulfurique est versé avec précaution et il se forme un anneau rouge à la limite de séparation. En mélangeant, tout le liquide se colore en rouge, puis en violet.

*
* * *

Aucune de ces réactions n'est entièrement spécifique des sels biliaires ; cependant suivant les conditions dans lesquelles on se place, suivant le milieu organique éprouvé, un certain nombre ont pu donner lieu à une méthode de dosage.

V. — Méthodes biologiques

Il n'existe pas de méthode biologique générale de recherche des sels biliaires.

Celles que l'on a proposées sont des méthodes indirectes s'adressant à des cas particuliers :

1^o Pour juger de la présence des sels biliaires dans le duodénum, c'est-à-dire le passage de la bile dans l'intestin, MM. Lemierre et Brulé ont proposé la méthode des hémocoques.

2^o Pour juger de la présence des sels biliaires dans le sérum sanguin, on a fait appel à des méthodes d'hémolyse.

Les acides biliaires produisent, à certaines concentrations, l'hémolyse des globules rouges. Le sérum normal en quantité suffisante arrête cette hémolyse. Si le sérum contient des acides biliaires, il en faut des quantités plus grandes pour arrêter l'hémolyse.

Frey établit une relation quantitative entre la teneur du sérum en acides biliaires et la diminution du pouvoir d'arrêt de l'hémolyse. Il détermine de cette façon la concentration en acides biliaires.

Williams (J. W.) constatant que l'addition de citrate de soude à des solutions de sels biliaires augmente très nettement le pouvoir hémolysant de ceux-ci, alors que le sérum sanguin protège au contraire les globules rouges contre l'hémolyse par les sels biliaires, pense que l'application de ces données permettrait d'évaluer la résistance des globules rouges d'une part, et d'évaluer la teneur d'un sérum sanguin en sels biliaires d'autre part, en utilisant des globules rouges de résistance connue.

CHAPITRE II

LES MÉTHODES DE DOSAGE DES SELS BILIAIRES APPLIQUÉES AU SANG

Ce sont les méthodes colorimétriques qui ont été les plus employées. Nous les décrirons avec quelques détails afin de permettre au lecteur l'interprétation et la critique des résultats parfois divers auxquels elles ont donné lieu. Par contre nous présenterons plus brièvement les autres méthodes ; elles n'ont pas reçu d'application clinique.

I. — Méthodes biologiques, physiques et gazométriques

Les méthodes biologiques basées sur l'hémolyse semblent avoir été fort peu employées. Rosenbind, guidé par Rosenthal, a trouvé avec la méthode de Frey des valeurs exorbitantes. On peut, en partie du moins, se faire une idée des raisons de tels résultats : les facteurs de l'hémolyse sont complexes, globules et sérum interviennent. La résistance des globules rouges aux acides biliaires est sans doute très variable ; il faut également tenir compte des variations de composition du sérum, en particulier dans le taux et les proportions des protides.

L'*essai de polarimétrie* appliqué au sang par G. Rosenthal n'a pas permis à cet auteur d'obtenir des résultats satisfaisants. Il est très difficile en effet de séparer avec certitude les acides biliaires des autres substances douées de pouvoir rotatoire. Rosenthal incrimine plus particulièrement les acides gras oxydés dont l'acide β oxy-butyrique qui est

lévogyre. Ajoutons qu'un tel dosage dure à peu près six jours : 24 heures d'extraction, 1 à 2 jours d'évaporation de l'alcool, 12 heures de saponification, extraction par l'éther répétée au moins dix fois, exposition à la lumière pendant plusieurs jours du liquide s'il est fortement coloré. F. Rosenthal poursuivant des recherches analogues, propose une méthode non moins compliquée. Il applique la même méthode au sang et aux autres tissus et ne rapporte qu'un dosage dans 100 grammes de foie auxquels il avait ajouté 0 gr. 429 de sels biliaires. Son dosage est exact à 3,26 % près. L'année suivante (1931), Jenke, répondant directement à cet article, reste convaincu que la méthode polarimétrique n'est applicable qu'aux grandes quantités de sels biliaires, et qu'il ne saurait en être question pour le sang, les organes et l'urine.

Les variations de la tension superficielle du sérum par la présence de sels biliaires sont en clinique d'un ordre peu élevé et difficilement interprétables par la stalagmométrie. Les courbes stalagmométriques établies tant par Chabrol et Bénard, Maximim après injection intraveineuse de un gramme de glycocholate de soude à un chien, que par Bariéty sur du sérum humain renfermant des quantités croissantes de glycocholate, mettent suffisamment le fait en évidence. Clottens a également tenté de graduer la cholalémie par l'étude de la tension superficielle du sérum.

Les progrès de la technique permettant une mesure plus fine de la tension superficielle, allaient-ils permettre d'utiliser cette méthode ? Adler s'y est appliqué en employant le dispositif de Brinckmann et Van Damm. Étudiant l'évolution de la cholémie acide après injection de sels biliaires il n'a pas fait, à proprement parler, de dosage : il a établi la courbe des variations de la tension superficielle, puis cherché à contrôler si ces variations correspondent bien à des variations de même ordre de la teneur en sels biliaires. Or, si après injection de sels biliaires, il a bien obtenu le plus souvent une diminution de la tension superficielle, il lui est arrivé parfois d'en obtenir une élévation. Comme l'orga-

nisme tend vraisemblablement à une régulation de la tension superficielle de son milieu intérieur (voir thèse de Sterne) il y a dans ses expériences une intrication de phénomènes physiologiques rendant l'interprétation des résultats non univoque. Mais voici plus :

L'addition *in vitro* de quantités croissantes de sels biliaires au sérum ne donne pas une chute continue de la tension superficielle. A des endroits particuliers de la courbe, on constate, malgré l'augmentation croissante des sels, une élévation de la tension superficielle.

G. Rosenthal arrive à des conclusions du même ordre : à partir de certaines concentrations, la tension superficielle en acides biliaires s'élève. Il en résulte qu'à chaque teneur en acides biliaires correspondent au moins deux valeurs, et en présence d'une valeur donnée, il est impossible de dire si elle se trouve sur la branche descendante ou ascendante de la courbe.

Adler et Rosenthal jugent également la méthode expérimentée inutilisable pour le dosage des sels biliaires dans le sérum. Et nous ne pouvons être que renforcés dans cette opinion par les connaissances modernes sur les facteurs qui interviennent dans la valeur de la tension superficielle (voir notamment l'ouvrage de Lecomte du Noüy : *Équilibres superficiels des solutions colloïdales*). Non seulement la tension superficielle est sous la dépendance du taux des électrolytes, des protides, des gaz, mais il faut compter avec certains facteurs physiques : variations en fonction du temps, influences du rapport entre la surface libre du liquide et son volume, de l'adsorption, de l'agitation, de la température, de certaines concentrations critiques.

Enfin la tension superficielle du sérum varie pour des raisons encore mal connues avec l'état du sujet : état de choc anaphylactique, d'immunisation, état pathologique en dehors de toute rétention biliaire (il y a par exemple augmentation de la tension superficielle dans l'insuffisance thyroïdienne et abaissement très important pour le sérum cancéreux : les chiffres étant de 47 à 53 au lieu de 65 à 75 dynes normalement) (voir thèse de Sterne).

Le problème est donc extrêmement complexe et pour séduisante que soit cette méthode, elle nous paraît difficilement applicable. Les questions techniques seraient-elles résolues, la méthode nécessiterait l'emploi d'un appareillage délicat et coûteux.

F. Rosenthal et Wislicki ont appliqué au sang *leur méthode gazométrique*. Ils éliminent les substances autres que les acides biliaires réagissant au « Van Slyke » (diamine, produits de l'hydrolyse des albumines) en précipitant les acides biliaires dans le résidu de l'extrait alcoolique par le sulfate de magnésie. Ils filtrent et lavent le résidu avec de l'alcool bouillant. Ils font deux parties égales de leur solution alcoolique. L'une est hydrolysée pendant 6 heures avec de la potasse à 16 %. Puis, dans les deux portions l'azote aminé total est dosé par la méthode de Van Slyke. La différence des résultats donne l'azote des acides biliaires. Cette méthode n'est applicable que si les acides biliaires du sang sont tous des acides dits « combinés. ». Le fait est loin d'être démontré ; s'il existe, comme certains le pensent, de l'acide cholalique libre, celui-ci n'est pas dosé.

II. — Méthodes colorimétriques

Peu après que Pettenkofer eut décrit sa réaction, Moleschott, en 1847, l'appliqua au sérum d'un ictérique et la trouva positive.

Cette application possible de la réaction de Pettenkofer au sérum sanguin devient classique avec Lehmann, qui la décrit dans son ouvrage de chimie physiologique (1850).

On la trouve ensuite utilisée dans divers travaux, notamment ceux de Huppert (1864) et ceux de Kufferath (1880). Feltz et Ritter (1875) après avoir ligaturé le cholédoque de neuf chiens auraient deux fois trouvé, dans le sérum, des taux de sels biliaires de 10 et 11 pour mille ; mais la recherche des sels biliaires dans le sang ne semblait pas très en faveur, jusqu'au moment où Lemierre et Brulé mirent en évidence l'existence des ictères dissociés. Un certain nombre d'auteurs

qui s'occupèrent de la question, à leur suite, cherchèrent à caractériser, puis à doser les sels biliaires dans le sang. On assista alors en quelques années à une véritable floraison de méthodes, dont beaucoup, à vrai dire, ont un lien de parenté.

* * *

Tout un groupe, en particulier, est représenté par les méthodes où l'on a recours à la réaction de Pettenkofer. C'est par l'exposé de celles-là que nous commencerons.

EN 1916 HOOVER ET BLANKENHORN établirent le principe de l'extraction des sels biliaires du plasma par dialyse à travers des sacs de collodion plongés dans un mélange d'alcool et d'eau. Sur le dialysat concentré ils pratiquaient la réaction de Pettenkofer, et la contrôlaient par la bande d'absorption au spectroscope et par les variations de la coloration dans les douze heures suivantes : ils n'acceptaient comme positives que celles des réactions dont la coloration passait du rose à un rouge plus foncé, en même temps que la bande d'absorption primitive dans le pourpre diminuait ou disparaissait pour être remplacée par une autre dans l'orange.

BLANKENHORN dans deux autres articles a précisé son mode opératoire.

Il dialysait 5 centimètres cubes de plasma dans 10 centimètres cubes d'un mélange à parties égales d'eau et d'alcool (premier travail) ou 3 centimètres cubes de plasma dans 9 centimètres cubes d'eau (deuxième travail), à travers des sacs de collodion. Après une nuit de dialyse, concentration de deux ou trois dialysats réunis. A 2 centimètres cubes du liquide concentré, addition de 2 ou 3 gouttes de furfurol à 1 pour 1.000 et goutte à goutte de 2 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré. Après agitation du mélange, apparition de la coloration en portant le récipient dans un bain à 60°.

EN 1920, GILBERT, CHABROL ET H. BÉNARD ne cherchent

pas à isoler complètement les sels biliaires. Après avoir précipité les albuminoïdes par un excès d'alcool, ils caractérisent dans le filtrat l'acide cholalique par la réaction de Pettenkofer avec contrôle spectroscopique :

2 centimètres cubes de sérum précipités par 20 centimètres cubes d'alcool à 95 % sont portés quelques minutes au bain-marie jusqu'à ébullition. Filtration à chaud. Le filtrat est évaporé complètement au bain-marie. Reprise du résidu (en triturant) par 5 centimètres cubes d'acide sulfurique pur dilué au demi. Centrifugation. Au liquide obtenu on ajoute une goutte de solution de furfurol à 1 %. Après agitation, on maintient au bain-marie à 60° pendant cinq minutes.

Si la réaction est positive, il se développe une teinte brun foncé.

L'examen spectroscopique montre dans le vert une bande d'absorption bien distincte correspondant à un $\lambda = 515$.

Cette bande caractéristique n'est nettement appréciable que pour les solutions ayant une concentration en sels biliaires au moins égale à 1/10.000 (soit 0 gr. 10 par litre).

En précisant ainsi la limite de sensibilité de leur méthode ces auteurs apportent à leurs recherches un élément quantitatif.

EN 1927, BARIÉTY a repris cette méthode dans sa thèse : il précise :

Qu'« après avoir redissous le résidu dans 5 centimètres cubes d'acide sulfurique au 1/2, quand on ajoute une goutte de furfurol et que l'on porte le tout au bain-marie à 65°, on obtient une coloration jaunâtre ou rose, suivant la quantité de sels biliaires, mais le mélange est toujours un peu trouble. Il faut alors centrifuger ».

Ce sont des méthodes du même type que présentèrent en 1923 TASHIRO, puis JENKE et STEINBERG en 1930.

Entre temps, MEILLÈRE, avait proposé d'effectuer la recherche de préférence sur le sang total :

10 centimètres cubes de sang sont additionnés de 50 centimètres cubes d'acétone et de quelques gouttes d'acide trichloracétique. Le coagulum mis à égoutter sur un fragment de compresse est

ensuite fortement exprimé, délayé à nouveau dans 30 centimètres cubes d'acétone, puis exprimé. Les liqueurs réunies et filtrées sont évaporées. L'extrait acétonique se prête directement à la réaction de Pettenkofer. Si les teintés obtenues manquaient de netteté on traiterait ce résidu acétonique par 50 centimètres cubes d'eau et 3 grammes de noir animal et on procéderait à partir de ce moment comme l'auteur a proposé de le faire pour la recherche des sels biliaires dans les urines.

*
* *

D'autres auteurs essayant d'arriver à une méthode exacte de dosage se sont surtout attachés à préciser les conditions dans lesquelles doit être réalisée la réaction de Pettenkofer pour que les comparaisons au colorimètre soient possibles.

Ils ont porté leur attention : et sur la concentration de la solution de glucose ou de furfurol, et sur la température optima, et sur le temps pendant lequel cette température doit être maintenue.

COQUELET dans sa méthode (1927) :

— utilise une réaction avec acide sulfurique et une solution alcoolique de furfurol à 1 % ;

— réalise une très haute température (120°-160° pendant quelques instants seulement.

A 5 ou 10 centimètres cubes de plasma ou de sérum on verse goutte à goutte quatre volumes au moins d'alcool absolu, en agitant. Trois heures après : filtration et centrifugation. A une partie aliquote correspondant à 4 ou 5 centimètres cubes de plasma ou sérum on ajoute 0 cc. 3 de soude à 5 %. Evaporation au bain-marie. Un peu avant siccité l'excès de soude est neutralisé en partie par de l'acide oxalique (la réaction doit rester nettement alcaline). Le résidu sec est extrait pendant 10 minutes par du chloroforme. Après deux lavages avec 5 centimètres cubes de chloroforme les liqueurs chloroformiques sont évaporées à sec d'une façon très poussée. La pellicule ainsi déposée au fond du vase est extraite par le liquide aqueux, on reprend par le chloroforme. C'est après avoir encore évaporé et repris le résidu par 0 cc. 5 d'alcool que l'on effectue la réaction sur cette solution alcoolique.

Pour cela on ajoute 0 cc. 1 d'une solution alcoolique à 1 % de

furfurol, puis on laisse couler lentement d'une microburette 0 cc. 5 d'acide sulfurique concentré, le long des parois du tube. Alcool et acide se superposent. On mélange brusquement le contenu, la température s'élève ; mais immédiatement on ajoute 5 centimètres cubes d'un réactif composé de 100 volumes de chloroforme et 40 volumes d'alcool.

On a en même temps préparé de la même façon plusieurs étalons.

Dix minutes après on fait la lecture au colorimètre en prenant l'étalon le plus voisin (la coloration obtenue est généralement d'un bleu intense).

Avec cette méthode, l'auteur dit déceler des quantités de sels biliaires de l'ordre de 1/100^e de milligramme et en doser des quantités de l'ordre de 1 milligramme par cc. de sérum.

ALDRICH ET BLED SOE (1928) :

— utilisent avec l'acide sulfurique une solution de saccharose à 1 % ;

— et maintiennent la température à 37° pendant une heure.

5 centimètres cubes de sang oxalaté total sont additionnés de 35 centimètres cubes d'alcool à 95 % en agitant dans un ballon jaugé. Le volume total est porté à 50 centimètres cubes avec de l'alcool, puis on filtre.

A 35 centimètres cubes de liquide, on ajoute 40 à 50 milligrammes de norite, on agite énergiquement et on filtre. Dans un bécher, 30 centimètres cubes du filtrat ainsi décoloré sont additionnés de 1 centimètre cube de solution saturée de baryte et le mélange est évaporé sur la plaque chauffante électrique jusqu'à 3 ou 4 centimètres cubes (éviter de surchauffer). Le dessèchement terminal se fait à la soufflerie. A trois reprises on épuise le résidu par 5 centimètres cubes d'éther anhydre que l'on porte à l'ébullition. On élimine ainsi le cholestérol et les lipides ; les fragments de résidu qui seraient en suspension sont récupérés par centrifugation.

On traite alors simultanément le résidu et cinq étalons contenant respectivement : 0 mg. 1, 0 mg. 15, 0 mg. 2, 0 mg. 3, 0 mg. 4 d'acides biliaires préparés par évaporation d'une solution alcoolique de concentration connue.

On ajoute aux six béchers 0 cc. 4 d'une solution de saccharose à 1 % et 8 centimètres cubes d'acide sulfurique à 60 % (en volume),

et on les maintient à l'étuve ou au bain-marie à 37° pendant une heure. On refroidit alors à la glacière. Toutes ces opérations doivent mettre la solution à doser et les étalons dans les mêmes conditions de température, et à l'abri de la lumière. Le précipité de sulfate de baryum de la solution à doser est centrifugé pendant 15 minutes et le liquide surnageant est alors comparé au colorimètre avec l'étalon le plus voisin.

La teinte obtenue va du jaune rosé au rouge pourpre foncé, ce qui rend la comparaison colorimétrique difficile. Il faut munir le colorimètre d'un « coin de compensation ».

Avec leur méthode, ces auteurs ont dosé des quantités de sels biliaires additionnées à 100 centimètres cubes de sang avec une erreur de 0 mg. 5, ce qui correspond le plus souvent à une erreur de moins de 10 %.

GRÉGORY ET PASCOE (1929) :

— ajoutent à la solution d'acides biliaires 34 volumes pour 100 d'acide sulfurique et 0,05 pour 100 (en volume) de furfurol ;

— ils portent le mélange à 65° pendant 30 minutes ;

— et font leur détermination colorimétrique en lumière monochromatique.

Ils rapportent dans leur mémoire comment ils ont appliqué leur méthode générale de dosage des sels biliaires à de très grandes quantités de sang :

5 litres de sang frais de bœuf furent additionnés de trois fois leur volume d'alcool à 95 %, portés à l'ébullition et filtrés ; le coagulum épuisé deux fois par de l'alcool chaud, et l'ensemble des filtrats évaporés dans le vide. Après reprise par l'alcool à 95 % et nouvelle évaporation le résidu est dissous dans 200 centimètres cubes d'eau chaude. On refroidit ; addition jusqu'à saturation de sulfate de magnésie solide. Une centrifugation amène la séparation en deux couches. On décante la couche supérieure. Cette portion est épuisée avec de l'alcool à 50 % dont on porte le volume à 100 centimètres cubes. On complète l'autre portion (couche inférieure) à un volume de 200 centimètres cubes dont 25 centimètres cubes sont évaporés à sec ; le résidu est repris par 50 centimètres cubes d'alcool. On a ainsi deux extraits alcooliques. Sur 2 centimètres cubes de chacun d'eux Grégory et Pascoe firent leur réaction en ajoutant 6 centimètres cubes d'acide sulfurique à 45 % et 1 centi-

mètre cube de furfural à 0,3 %. Après 30 minutes au bain-marie à 65° ils comparent avec leurs étalons préparés de la même façon. Dans ce cas particulier (la seule expérience sur le sang qu'ils rapportent), ils ne trouvent pas de sels biliaires. Ils présentent leur méthode comme apte à doser les sels biliaires du sang en comparant dans un colorimètre muni d'un éclairage monochromatique la coloration obtenue à celle des étalons (la source est une lampe à néon munie de filtres convenables). Ce dispositif leur a donné de bons résultats pour les dosages dans la bile.

Notons que cette méthode, bien que dérivée de la réaction de Pettenkofer, présente une certaine personnalité : non seulement la coloration obtenue est d'un bleu franc, différente de celles, mal caractérisées, obtenues par les autres auteurs, mais dans les conditions strictes indiquées, les substances susceptibles de troubler la réaction de Pettenkofer : taurine, cholestérol, lanoline, lécithine, etc... donneraient ici une réaction négative.

*
* *

Voici maintenant d'autres méthodes qui ne dérivent plus de la réaction de Pettenkofer.

HERZFELD ET HAEMMERLI (1925) : ont utilisé la réaction de Drechsel où l'acide sulfurique est remplacé par l'acide phosphorique.

Addition goutte à goutte au sérum d'une quantité double d'alcool absolu. Après ébullition, on filtre à chaud et le filtrat est évaporé au bain-marie. Le résidu est repris par un petit volume d'eau distillée. C'est sur cette solution que les auteurs pratiquent leur méthode générale de dosage des acides biliaires.

Dans une série de tubes à hémolyse on verse respectivement :
— dans les tubes, 1 et 2 : 1 centimètre cube de la solution de sels biliaires ;

— dans tous les tubes, sauf le premier : 1 centimètre cube d'eau distillée.

Après mélange du contenu du tube 2, on prélève dans ce tube 1 centimètre cube que l'on verse dans le tube 3, et ainsi de suite.

Dans chaque tube, on ajoute 0 cc. 5 d'une solution de furfurol à 1 % dans l'alcool absolu, puis 2 centimètres cubes d'acide phosphorique à 85 %.

Tous les tubes sont portés pendant 5 à 6 minutes au bain-marie bouillant ; on note ensuite dans quel tube se perçoit la teinte limite : vert faible correspond à 0 mg. 0625 de sels biliaires.

D'après ces auteurs, dans ces conditions, la limite de sensibilité de la réaction est de 1/20.000.

*
* *

A côté des méthodes utilisant une réaction de Pettenkofer plus ou moins modifiée, certaines sont basées sur les réactions communes aux sels biliaires et au cholestérol. Telles sont les deux méthodes suivantes :

PERLZWEIG ET BARRON (1926) proposent une réaction colorimétrique qui est une modification de celle de Liebermann-Burchard pour le cholestérol.

On prépare un mélange composé de 75 centimètres cubes d'une solution fraîchement préparée à 0,45 % de sulfate de zinc, 15 centimètres cubes de soude décimorale, et 50 centimètres cubes d'alcool redistillé. On y verse goutte à goutte en agitant 5 centimètres cubes de plasma. On laisse au repos pendant la nuit, puis on filtre. Le filtrat est évaporé à sec au bain-marie. Le précipité de protides est lavé sur le filtre avec 50 centimètres cubes d'eau bouillante. Cette eau chaude de lavage est utilisée pour dissoudre les sels biliaires du résidu du filtrat alcoolique. La solution aqueuse est filtrée, puis évaporée à sec ; le résidu est lavé plusieurs fois à l'éther pour extraire les traces restantes de pigments biliaires et de cholestérol, puis séché, dissous enfin dans 5 centimètres cubes d'anhydride acétique. Cette solution est transvasée après filtration dans un tube à essai étroit, gradué à 5 centimètres cubes. Après addition de dix gouttes d'acide sulfurique pur et concentré, on agite et la coloration brun clair apparaît.

Des étalons préparés simultanément avec des solutions connues de sels biliaires purifiés dans l'anhydride acétique permettent, après 15 à 20 minutes, la comparaison au colorimètre.

Par cette méthode, les auteurs ont dosé des quantités de sels biliaires de 1 à 10 milligrammes ajoutées au sang

avec une erreur de 5 %. L'erreur atteint 10 % pour des quantités inférieures à 1 milligramme. (Les auteurs ne précisent pas à quelles quantités de sang ils ont fait ces additions — nous ne sommes donc pas renseignés sur la sensibilité de la méthode.)

PREMIÈRE MÉTHODE DE SZILLARD (1925). Elle consiste à appliquer au sérum la réaction de Liefschutz : la réaction de l'oxycholestérine basée sur la coloration bleue apparaissant par l'addition d'un mélange d'acide acétique cristallisable et d'acide sulfurique est aussi donnée par les acides biliaires après leur oxydation.

On verse goutte à goutte 5 centimètres cubes de sérum dans 150 centimètres cubes d'alcool absolu (ou d'alcool méthylique) en agitant. On porte à l'ébullition au bain-marie et l'on ajoute, pour adsorber les pigments biliaires, « un peu » de charbon animal. Nouvelle ébullition, puis filtration. Rincage du récipient par de petites quantités d'alcool également filtrés.

L'ensemble du filtrat est évaporé au bain-marie jusqu'à 15 centimètres cubes. Après refroidissement partiel, les sels biliaires sont précipités par 100 centimètres cubes d'éther : lipides et cholestérol restent en solution.

Après 2 ou 3 heures à la glacière, le liquide s'éclaircit. On aspire alors prudemment le mélange alcool-éther et le précipité est décanté deux ou trois fois. Enfin la petite quantité d'éther restant est évaporée au bain-marie.

On dissout le résidu à faible température dans 5 centimètres cubes d'acide acétique et l'on ajoute un peu de peroxyde de benzoyle qui se dissout bien à chaud. Lorsque le dégagement gazeux a cessé, on porte deux ou trois fois à l'ébullition franche. Après refroidissement rapide on ajoute 1 centimètre cube d'un mélange formé d'un 1 volume d'acide acétique cristallisable. Le développement complet de la coloration demande 10 à 15 minutes, on peut l'accélérer par l'addition d'une goutte de perchlorure de fer en solution acétique à 2,5 %. La lecture peut ainsi être immédiate.

L'étalon est préparé avec un mélange chimiquement pur de sels biliaires contenant trois parties de glycocholate de soude et une partie de taurocholate (à peu près les proportions de ces sels dans la bile humaine).

La comparaison des colorations se fait au colorimètre.

Toutes ces méthodes colorimétriques, qu'elles soient basées sur une réaction de Pettenkofer plus ou moins modifiée ou à plus forte raison sur une réaction commune au cholestérol et aux acides biliaires, ont l'inconvénient de manquer de spécificité (1). Si l'extraction des substances diverses autres que les acides biliaires susceptibles d'entrer en jeu, n'est pas parfaite, les résultats sont faussés par excès. Or, il s'agit d'éliminations délicates et rarement totales. C'est pourquoi Szillard, un an après sa première communication, présentait une autre méthode.

DEUXIÈME MÉTHODE DE SZILLARD (1926). Elle consiste à précipiter, quantitativement, les sels biliaires par le chlorure ferrique et à doser le fer ainsi combiné par colorimétrie.

Le sang citraté ou oxalaté est centrifugé ; 5 centimètres cubes de plasma sont versés dans 250 centimètres cubes d'alcool absolu (ordinaire ou méthylique). On fait bouillir au bain-marie, puis on filtre. Le bécber est rincé deux ou trois fois à l'alcool. L'ensemble des liquides filtrés est évaporé dans le vide jusqu'à 10 ou 15 centimètres cubes. Après refroidissement addition, en agitant, de 300 centimètres cubes d'éther. Le liquide se trouble. Après quelques heures de repos, il s'éclaircit. Le mélange alcool-éther est prudemment aspiré et le précipité est lavé deux ou trois fois à l'éther ; enfin la petite quantité d'éther restante est évaporée au bain-marie et centrifugé. Au liquide on ajoute 0,3 ou 0 cc., 5 de chlorure ferrique selon la teneur présumée en sels biliaires. En maintenant à 37° il se dépose un précipité brun rouille. En un temps variable de 15 minutes à quelques heures le liquide devient parfaitement transparent ; on termine par une centrifugation. Le précipité est lavé deux ou trois fois à l'eau distillée et encore centrifugé. On le reprend par 5 centimètres cubes d'alcool absolu pour le verser dans un verre à réaction. Le rinçage porte le volume alcoolique à 10 centimètres cubes. On y ajoute 5 centimètres cubes de chloroforme et après avoir bien mélangé : 0 cc., 2 d'acide sulfosalicylique à 120 % puis 5 centimètres cubes d'eau acidulée à 4 % d'acide chlorhydrique concentré. Après agitation, l'eau se sépare et se place à la

(1) Udranszky, Fleig, Walker et d'autres citent de nombreux corps susceptibles de fournir une coloration avec la réaction de Pettenkofer. Un certain nombre de ces corps se rencontrent de façon constante dans le sang.

partie supérieure. On peut accélérer la séparation totale du chloroforme et de l'éther en faisant couler de l'eau tiède à 50° environ sur le récipient (une séparation complète est indispensable). La couche supérieure aqueuse teintée en rouge, est alors versée dans le colorimètre pour la comparaison.

Remarquons que la précipitation par le chlorure ferrique n'intéresse théoriquement que le glycocholate. C'est même là le temps essentiel d'une méthode classique de séparation de ce sel dans un mélange de sels biliaires pour en obtenir la purification. Pour l'auteur cependant, étant donné l'extrême dilution, le taurocholate pourrait lui aussi précipiter.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

Les techniques se proposant de caractériser ou de doser les sels biliaires dans le sérum sanguin sont très nombreuses : méthodes physiques, méthodes biologiques, méthodes chimiques (gazométriques, colorimétriques). Par contre elles ont été très peu éprouvées en clinique, aussi serons-nous brefs sur leurs résultats. En effet, comme nous le verrons, la plupart de ces techniques sont criticables ; leur utilisation éphémère suffirait d'ailleurs à le prouver.

*
* * *

Certaines d'entre elles n'ont même pas été employées. Les méthodes physiques, biologiques, semblent plus avoir été proposées pour leur ingéniosité que pour les résultats qu'elles pouvaient apporter : les auteurs mêmes qui les ont étudiées ne les ont pas appliquées à l'étude de la maladie.

F. Rosenthal et Wislicki par leur méthode gazométrique donnent les chiffres suivants :

Deux sujets normaux	0
Calcul du cholédoque	0 gr. 072 $\frac{\text{o}}{\text{oo}}$
letère simple	0 gr. 055 $\frac{\text{o}}{\text{oo}}$
Calcul du cholédoque	0 gr. 067 $\frac{\text{o}}{\text{oo}}$
letère simple	0 gr. 127 $\frac{\text{o}}{\text{oo}}$

Ce sont des chiffres du même ordre qu'ils rapportent dans une communication suivante.

Schalscha et Landé avec la même méthode gazométrique obtiennent comme résultat :

Cirrhose atrophique.....	0 gr. 033 $\frac{o}{oo}$
Cirrhose hypertrophique.....	0 gr. 045 $\frac{o}{oo}$
Ictère hémolytique	0 gr. 026 $\frac{o}{oo}$
Cancer des voies biliaires	0 gr. 093 $\frac{o}{oo}$
Cholélithiasse	0 gr. 136 $\frac{o}{oo}$

Les méthodes colorimétriques qui ont surtout été employées se ramènent à trois types :

- celles qui sont dérivées de la réaction de Pettenkofer ;
- méthode de Herzfeld et Haemmerli ;
- méthode de Szillard.

a) *Résultats obtenus avec les méthodes dérivées de la réaction de Pettenkofer.*

Deux reproches ont été faits aux techniques dérivées de la réaction de Pettenkofer : tout d'abord cette dernière n'est pas spécifique, certaines substances constamment présentes dans le sérum sanguin donnent également une teinte gris-bleuâtre ; deuxièmement elle n'est pas très sensible. Pour remédier à son manque de spécificité on s'est ingénié à trouver des correctifs.

Hower et Blankenhorn, espèrent en dialysant le sérum obtenir une élimination, partielle il est vrai, du cholestérol ; mais on peut alors se demander quelle quantité d'acides biliaires dialyse ; d'ailleurs les auteurs se contentent d'une détermination qualitative. En lisant leurs travaux, nous sommes étonnés de la fréquence avec laquelle ils trouvent une cholalémie positive chez les sujets indemnes de toute affection hépatique : sur vingt-deux sujets normaux, quatre avaient une cholémie saline ; de même pour vingt-quatre sur trente-quatre cas d'anémie pernicieuse et pour deux cas sur trois de tæmia. Dans trois cas d'asystolie sur dix, dans la moitié des cas de septicémie (Eberth, streptocoques), dans quatorze cas de pneumonie sur quarante, dans tous les cas étudiés d'ictère catarrhal et d'ictère par obstruction, la réaction est positive ; par contre elle est négative dans cinq cas de malaria et dans sept cas d'anémie secondaire sur sept.

MM. Gilbert, Et. Chabrol et H. Bénard, puis Bariéty exigeant le contrôle spectroscopique pour affirmer que la réaction est positive, ne peuvent mettre en évidence que 0 gr. 10 d'acide cholalique par litre de sérum ; ils n'ont pas trouvé de cholémie saline chez douze sujets normaux et chez quatre malades atteints d'ictère splénomégalique. Ils ne voient leur réaction devenir positive qu'au cours des ictères catarrhaux ou pancréatiques très foncés, et ils évaluent le chiffre de la cholémie saline dans les grands d'ictère par rétention à 0 gr. 10 ou 0 gr. 20 ‰.

Un an après MM. Gilbert, Et. Chabrol et H. Bénard, Jenke et Steinberg proposent la même réaction, mais tiennent compte dans l'appréciation de la bande d'absorption de l'épaisseur du liquide disposé entre la source lumineuse et le spectroscope. Dans ces conditions, chez des individus sains, chez des malades atteints de gastrite, de néphrite, de bronchite, la réaction est négative ; de même elle est négative au cours de deux ictères catarrhaux, au cours d'une cholélithiase, alors qu'elle est positive au cours de six autres ictères.

Par contre, lorsqu'ils se basent sur la seule appréciation colorimétrique, dans la plupart des cas précédants ils obtiennent une réponse positive. Ces résultats confirment combien la réaction de Pettenkofer est peu spécifique.

Coquelet, partant d'un mélange de vingt sérums humains, trouverait le chiffre étrangement élevé de 0 gr. 042 par litre.

Aldrich et Bledsoe nous donnent le tableau suivant :

Sérum normal de chien	0 gr. 065 ‰
Ictère par obstruction chez le chien.....	0 gr. 163 ‰
Sérum humain normal	0 gr. 051 ‰
Sérum humain normal	0 gr. 032 ‰
Ictère par obstruction	0 gr. 083 ‰
Ictère par obstruction	0 gr. 167 ‰
Cancer du foie	0 gr. 150 ‰
Cirrhose acitque	0 gr. 072 ‰

Charlet avec la méthode d'Aldrich et Bledsoe, et Rodolfo Dassen avec la même méthode qu'il a comparée à celle de Coquelet, trouvent tous deux des chiffres analogues. On ne peut s'empêcher d'être étonné qu'il y ait un si petit écart

entre les sujets normaux et ictériques, entre un sujet porteur d'une cirrhose ascitique et un malade atteint d'ictère par obstruction. Remarquons que l'on devrait, avec cette technique, trouver peu de sels biliaires puisqu'il y a une décoloration du filtrat alcoolique par le noir animal ; or, elle donne au contraire une cholalémie physiologique très élevée.

Walker, faisant une critique serrée de la méthode, a montré expérimentalement que l'oléate de cholestéryle n'est pas éliminé et rend la réaction positive.

Grégory et Pascoe pensent effectuer leur réaction dans des conditions telles que ni la taurine, ni le cholestérol, ni la lanoline, ni la lécithine ne pourraient venir l'entacher d'erreur ; sur deux essais portant sur cinq litres de sérum de bœuf, ils n'ont pas trouvé la réaction positive.

Il est curieux de souligner que tous ces résultats, bien qu'assez différents les uns des autres, ont tous été effectués avec des méthodes dérivées de la réaction de Pettenkofer : nous voyons donc combien la réaction peut différer suivant les modifications de technique qui lui sont apportées.

*
* *

b) *Herzfeld et Haemmerli* pensent que les lipoides, les protéines, les graisses et les hydrates de carbone ne déterminent aucune coloration dans leur réaction, à condition que le chauffage au bain-marie ne soit pas trop prolongé. Ils nous donnent les résultats suivants :

Ictère par obstruction néoplasique	{ 0 gr. 250	°/oo
	{ 0 gr. 125	°/oo
Ictère par tumeur vaticienne	{ 0 gr. 125	°/oo
	{ 0 gr. 250	°/oo
Ictère catarrhal	0 gr. 031	°/oo
Ictère catarrhal	Traces	
Cholécystite aiguë.....	0 gr. 0625	°/oo

La lecture de leurs travaux suggère deux réflexions : on est étonné que les auteurs aient choisi un type de dilution ne leur permettant de graduer leurs résultats que de loin

en loin : 31 mg. p. 1000 ; 62[•]mg. 5 pour 1000 ; 125 mg. pour 1000 ; 250 mg. pour 1000. On est également étonné de trouver de si faibles chiffres au cours des ictères catarrhaux.

*
* *

c) *La méthode de Szillard* (deuxième méthode) a été éprouvée par Niro Endo et Katayama. Les deux auteurs nous signalent des chiffres de 0 à 0 gr. 30 pour 1000 chez des sujets normaux ; fait curieux les résultats sont très voisins dans les cirrhoses, dans les cancers du foie puisque Katayama rapporte pour ces cas les chiffres de 0 gr. 32 pour 1000 et de 0 gr. 36 pour 1000 par exemple ; fait plus étrange encore, sur sept cas d'ictère catarrhal, nous trouvons à la période d'état les chiffres extrêmes de 0 gr. 312 pour 1000 et de 0 gr. 535 pour 1000. Enfin les chiffres les plus bas se trouveraient au cours des ictères par obstruction : les auteurs notent sur cinq cas les taux de 0 gr. 25 pour 1000, 0 gr. 30 pour 1000, 0 gr. 34 pour 1000, 0 gr. 14 pour 1000, 0 g. 34 pour 1000. Ces résultats sont vraiment trop paradoxaux pour qu'on ne soit pas sceptique sur la méthode Szillard.

*
* *

Quelles conclusions tirer de tous ces faits ?

Un bon nombre d'auteurs : Hoover et Blankenhorn, Coquelet, Aldrich et Bledsoe, Charlet, Dassen, Niro Endo, Katayama, ont signalé une cholémie saline physiologique nette et des taux relativement élevés à l'état pathologique. Ces auteurs ont employés soit une réaction de Pettenkofer non contrôlée par l'examen spectroscopique, soit la deuxième méthode de Szillard.

Dans le premier cas, nous pouvons, avec Udransky, Fleig et surtout Walker, incriminer le manque de spécificité de la réaction de Pettenkofer. Par contre nous ne pouvons pas faire une critique précise de la réaction de Szillard que nous n'avons pas expérimentée. Contentons-nous de constater que proposée par son auteur pour remplacer des méthodes susceptibles de donner des résultats trop forts, elle donne des

résultats plus grands encore : plus d'un demi-gramme par litre dans le sérum des malades atteints d'ictères catarrhaux.

Nous considérons comme plus près de la vérité les chiffres moindres et concordants dans leur ensemble, fournis par la méthode gazométrique, la réaction de Pettenkofer contrôlée au spectroscope (Gilbert, Chabrol et H. Bénard) et la réaction de Drechsel.

Tels sont les résultats rapportés par Rosenthal et Wislicki, Schalscha et Landé, Jenke et Steinberg, Herzfeld et Haemmerli.

Gilbert, Chabrol et H. Bénard, ne trouvant que 0 gr. 10 à 0 gr. 15 de sels biliaires par litre de sérum dans les ictères catarrhaux très intenses et les ictères par cancer de la tête du pancréas ou des voies biliaires, ont ainsi montré, les premiers, combien la cholémie acide reste toujours faible.

En résumé, à la lumière de ces faits, nous pouvons conclure que la cholémie saline physiologique paraît inférieure à la limite de sensibilité des méthodes actuellement proposées. A l'état pathologique, la cholémie saline, même dans les cas les plus accentués, ne doit guère dépasser 0 gr. 20 par litre de sérum. Ce sont donc toujours de très petites quantités de sels biliaires qui se trouvent dans le sang.

DEUXIÈME PARTIE

LA RÉACTION PHOSPHO-VANILLIQUE

CHAPITRE PREMIER

COMMENT PRATIQUER LA RÉACTION PHOSPHO-VANILLIQUE

A) Matériel nécessaire :

Le matériel d'étude n'est ni compliqué ni onéreux. Il suffit de disposer des éléments suivants :

- *Alcool à 90°.*
- *Filtres de papier.*
- *Acide orthophosphorique Poulenc à 85 % 60° Baumé, Dé = 1,71.*
- *Solution aqueuse de vanilline à 0 gr. 60 %.* Pour préparer cette solution, mettre dans un flacon de Erlenmeyer ou un ballon quelconque 0 gr. 60 de vanilline Poulenc et 100 cc. d'eau distillée ; laisser au bain-marie bouillant jusqu'à dissolution complète de la vanilline. Cette solution incolore peut être conservée plusieurs jours ; cesser de l'employer lorsqu'elle commence à jaunir.
- *Une capsule à évaporation de 30 à 40 cc. (à fond arrondi si possible).*
- *Dix tubes à essai de 18 millimètres de diamètre.*
- *Une douzaine de tubes à hémolyse (de douze millimètres de diamètre, si possible).*
- *Une pipette de 30 cc. graduée en cc.*
- *Deux pipettes de 10 cc. graduées au dixième de cc.*

- Deux pipettes de 2 cc. graduées au vingtième de cc.
- Un porte tubes pour tubes à hémolyse.
- Une gamme d'étalons roses, dans l'espèce le phosphate de cobalt ou mieux le Rose Diazol Lumière N-2J ; c'est ce dernier colorant que nous avons adopté.
- Un comparateur (1).

B) Technique du dosage de l'acide cholalique dans le sérum sanguin. (E. Chabrol, R. Charonnat et Jean Cottet).

La réaction phospho-vanillique se révèle par la coloration rose que donne avec l'acide cholalique l'acide phosphorique concentré à 60° Baumé et la vanilline en solution aqueuse.

Nous consacrerons plus loin un chapitre d'ensemble à l'étude analytique de cette méthode. Bornons-nous à indiquer dans ce chapitre les conditions techniques qui doivent être mises en œuvre pour obtenir la réaction.

Laisser tomber au moyen d'une pipette 3 centimètres cubes de sérum dans 27 centimètres cubes d'alcool à 90° ; ainsi le précipité sera très ténu ; le mélange est jeté sur un filtre de petit format contenant 40 centimètres cubes au plus ; cette précaution est utile afin d'éviter une trop grande absorption d'alcool par le papier du filtre. Reprendre 20 centimètres cubes du filtrat ; les mettre à évaporer dans une capsule à l'étuve à 37° environ ; le temps d'évaporation dure de dix à vingt heures ; si l'on veut faire plus rapidement la réaction il suffit de placer la capsule sur un bain-marie bouillant. De toute façon le résidu sec correspondant à 2 centimètres cubes de sérum est repris par 8 centimètres cubes d'acide phosphorique concentré à 85 % ; un délayage prolongé, avec une baguette de verre, raclant le fond de la capsule, est indispensable pour recueillir la totalité du résidu. *Le sérum primitif se trouve alors dilué au quart.* Si toutes ces manipulations ont été faites correctement, la liqueur phosphorique doit être homogène légèrement grisâtre, mais ne doit pas présenter de reflets rosés ; elle est plus ou moins verte lorsqu'il s'agit d'un sérum ictérique. Si ce dernier est très riche en pigments, la liqueur phosphorique présente de

(1) Nous avons fait construire par la maison Cogit (36, boulevard Saint-Michel, Paris), sous le nom de *Cholalimètre* une gamme d'étalons et un comparateur permettant aisément le dosage des sels biliaires dans le sang et la bile.

petites granulations jaunâtres ; il suffit d'agiter vivement le liquide dans un tube à essai pour les voir disparaître.

Nous faisons ensuite deux parts de ce liquide afin d'effectuer les réactions que nous appellerons : Réaction A (ou colorimétrique totale) — Réaction B (ou réaction de l'anneau-limite).

Réaction A. — Elle n'est positive que lorsque le sérum sanguin contient au minimum 0 gr. 020 d'acides biliaires par litre.

On verse dans deux des tubes à essai 2 centimètres cubes de la solution phosphorique précédente ; y ajouter 2 centimètres cubes d'acide phosphorique pur (1) ; le sérum se trouve ainsi dilué au 1/8^e (2) ; placer ces deux tubes au bain-marie bouillant pendant deux minutes ; les refroidir sous un courant d'eau ; verser dans l'un des tubes 1 centimètre cube d'une solution aqueuse de vanilline et dans l'autre 1 centimètre cube d'eau distillée (3) ; mélanger les deux liquides en renversant deux ou trois fois le tube dont l'extrémité est obstruée par le pouce ; un léger dégagement de chaleur se produit, que l'on atténue en continuant à refroidir. Entre la 8^e et la 10^e minute, les résultats peuvent être lus. Si le sérum contient un minimum de 20 milligrammes d'acide cholalique par litre, on observe une coloration rosée. On peut alors effectuer facilement un dosage colorimétrique, en se servant comme gamme de comparaison d'une série de dilutions de Rose Diazol Lumière N2J ou de notre cholalimètre Cogit. On emploie pour ce dosage un comparateur quelconque. Personnellement nous utilisons le comparateur de Cogit. Dans le premier orifice de droite nous mettons le tube où la réaction phospho-vanillique a été effectuée ; devant lui un tube de même diamètre contenant de l'acide phosphorique à 85 % dilué au 1/5 avec de l'eau distillée ; dans l'orifice situé sur

(1) L'acide phosphorique étant très sirupeux nous conseillons d'employer, si possible, des tubes à essai gradués ; on risque, par l'emploi de la pipette, de petites causes d'erreur.

(2) Si l'on a un sérum riche en pigments biliaires, il faudra diluer davantage. En général pour une bilirubinémie de moins de 1 gr. nous diluons au demi, pour une bilirubinémie dépassant 1 gr. nous diluons au quart en mettant 3 cc. d'acide phosphorique pur et 1 cc. de la liqueur phosphorique qui a repris l'extrait sec du sérum.

(3) Les sérums sur lesquels on pratique ces dosages sont le plus souvent ictériques et la bilirubine étant oxydée par l'acide phosphorique lorsque la réaction phospho-vanillique est positive, on obtient un mélange de rose et de vert. Aussi employons-nous un tube correcteur où le sérum a subi les mêmes traitements que le précédent, sauf l'addition de vanilline ; il ne présente donc qu'une couleur verte et sert de correcteur, placé dans le comparateur derrière l'étalon rose.

le même plan que ce dernier on place le second tube dans lequel, au lieu de 1 centimètre cube de solution aqueuse de vanilline, 1 centimètre cube d'eau distillée a été versé ; il servira de correcteur ; dans le dernier trou, enfin, on essaie les différents tubes étalons.

Pour calculer la quantité d'acide cholalique contenue dans un litre de sérum, il suffit d'appliquer la formule suivante :

$$x = 4 \times D \times E.$$

— 4 représente la dilution première du sérum au moment où l'extrait sec est repris par 8 centimètres cubes d'acide phosphorique.

— D représente la seconde dilution de l'acide phosphorique par 2 ou 3 ou 4, suivant les cas.

— E représente le chiffre inscrit sur chaque étalon de Rose Diazol, chiffre correspondant à une concentration d'acide cholalique égale à la couleur rose de l'étalon.

Réaction B. — Nous utilisons cette réaction lorsque l'expérience précédente ne donne pas de coloration rose ; nous appliquons alors le principe de dosage connu sous le nom « d'anneau limite » ou de « réaction zonale ».

Nous disposons à cet effet 4 tubes à hémolyse dans lesquels nous ajoutons successivement 0 cc., 50, 0 cc., 50, 0 cc., 25, 0 cc., 25, de la solution-mère au quart, puis dans chacun d'eux : 0, cc., 50, 0 cc., 50, 0 cc., 75, 0 cc., 75, d'acide phosphorique pur à 85 %. Nous réalisons ainsi des dilutions, au huitième et au seizième, du sérum primitif. Les 4 tubes à hémolyse sont placés au bain-marie bouillant pendant deux minutes, et refroidis comme précédemment, puis après les avoir agités soigneusement nous ajoutons dans le 1^{er} et le 3^e tube un centimètre cube d'eau distillée et dans le 2^e et le 4^e un centimètre cube de solution aqueuse de vanilline ; on se servira d'une pipette effilée afin de déposer délicatement à la surface de l'acide phosphorique la vanilline ou l'eau distillée (un cc. environ) ; une légère diffusion est cependant nécessaire ; nous l'obtenons en percutant très légèrement chaque tube. Lorsque la réaction est positive, on voit apparaître un anneau rose à la limite de séparation des deux liquides dans les tubes 2 et 4 ; c'est à partir de la 20^e minute que les résultats ont leur maximum de netteté. Les tubes 1 et 3 servent de témoins ; la réaction y est évidemment toujours négative. Sachant qu'une solution artificielle d'acide cholalique dans l'acide phosphorique à 85 % donne un anneau-limite correspondant à 1 milligramme d'acide phosphorique par litre, sachant que dans le 2^e tube le sérum est dilué au huitième

et au seizième dans le 4^e, si on voit un anneau seulement dans le 2^e tube, c'est que le sérum contient 0 gr. 008 d'acide cholalique et s'il y en a encore un dans le 4^e c'est que le sérum contient 0 gr. 016 d'acide cholalique par litre.

On pourrait naturellement obtenir plus de précision dans ce dosage en multipliant le nombre des tubes ; en fait, comme nous le verrons plus loin, ces données élémentaires sont très suffisantes pour les besoins de la clinique quotidienne.

Si la dilution de la réaction colorimétrique totale (réaction A) avait dû être plus poussée que le 1/8, du fait de l'intensité de la jaunisse, il faut préparer, en partant de la dilution primitive, autant de tubes à anneau-limite qu'il est nécessaire pour rejoindre la dilution terminale de la réaction colorimétrique totale.

La lecture de l'anneau demande une certaine habitude. Pour la faire dans les meilleures conditions, il faut se placer le dos à la lumière du jour et regarder le tube sur le fond d'un écran blanc. On ne doit pas se contenter d'une simple différence de teinte à la limite de séparation de l'acide phosphorique et de la vanilline—: *nous exigeons pour affirmer que la réaction est positive l'existence d'un liseré rosé indubitable*, ce dont on se rend assez facilement compte, si l'on prend la précaution, comme nous l'indiquons, de toujours faire les tubes témoins 1 et 3.

* *

Si l'on ne possède pas de gammes d'étalons roses voici la technique, beaucoup moins pratique d'ailleurs, que nous proposons :

Mettre successivement dans 10 tubes à hémolyse 0 cc., 25 0 cc., 01, 0 cc., 01, etc... de la solution mère d'acide phosphorique ayant repris l'extrait sec du sérum et y ajouter : 0 cc., 25 — 0 cc., 50 — 1 cc., — 1 cc., 50 — 2 cc. — 2 cc., 50 etc... d'acide phosphorique pur. Mélanger et procéder comme nous avons indiqué précédemment pour la réaction B. Voici la teneur du sérum en acide cholalique suivant le numéro du tube où le dernier anneau est visible :

1 ^{er} tube		0 gr. 008
2 ^e —		0 gr. 024
3 ^e —		0 gr. 044
4 ^e —		0 gr. 064
5 ^e —		0 gr. 084

6 ^e —	0 gr. 104
7 ^e —	0 gr. 124
8 ^e —	0 gr. 144
9 ^e —	0 gr. 164
10 ^e —	0 gr. 184

Il suffirait de faire des dilutions moins espacées pour avoir plus de précision ; mais il faudrait aussi préparer plus de tubes.

B) Technique du dosage de l'acide cholalique dans la bile (Et. Chabrol, R. Charonnat, Jean Cottet et Marcel Cachin).

La bile ne renfermant pas de substances parasites susceptibles d'induire en erreur avec la réaction phosphovanillique, nous évitons toute déperdition de sels biliaires que peut provoquer une défécation préalable et, tout en gagnant en précision, la méthode offre sur les précédentes l'avantage de la rapidité. Une dilution préalable de la bile est indispensable ; nous l'effectuons successivement avec de l'eau distillée et avec de l'acide orthophosphorique concentré à 85 % en techniquant de telle façon que, dans cette dernière dilution, il y ait moins d'un dixième de liquide biliaire (1).

Pour les biles A et C de couleur jaune d'or, nous faisons une dilution au 1/5^e avec l'eau distillée ; pour la bile B, brunâtre, la dilution varie du 1/10 au 1/50, suivant l'intensité de la coloration. S'il s'agit de la bile de chien recueillie directement par fistule du cholédoque, la dilution peut être portée au 1/100^e ; puis nous faisons une seconde dilution au 1/20^e, dans l'acide phosphorique (2), en mettant 0 cc. 2 de la bile diluée et 3 cc. 8 d'acide phosphorique. Deux variantes sont alors possibles.

A) *Réaction colorimétrique totale.* — Si l'on dispose d'une gamme

(1) Toute dilution aqueuse de l'acide orthophosphorique modifie la réaction-

(2) Si les résultats terminaux montrent qu'une bile n'ayant subie qu'une dilution au 1/20^e est trop pauvre en sels biliaires pour qu'il y ait une réaction colorée, il faudrait procéder à une évaporation préalable de la bile et reprendre l'extrait sec par l'acide phosphorique en faisant de telle sorte que la dilution soit au 1/5 ou au 1/10^e (la liqueur phosphorique sur laquelle la réaction phosphovanillique est pratiquée, ne doit jamais contenir plus de 1/20 d'eau). Si cette dilution était trop colorée pour permettre un dosage colorimétrique total, on opérerait comme nous l'indiquons p. 38 pour la réaction de l'anneau limite.

de tubes étalons préparés avec du Rose Diazol lumière N2J, ou du cholestérin Cogit, la réaction colorimétrique totale est la plus rapide.

Nous préparons pour tout échantillon de bile deux tubes qui contiennent chacun 4 centimètres cubes de la dilution phosphorique précédente. On place les tubes au bain-marie bouillant pendant 2 minutes ; on les refroidit sous un courant d'eau et l'on verse dans l'un d'eux un centimètre cube de la solution de vanilline à 0 gr. 60 % ; dans le 2^e tube on se borne à verser 1 centimètre cube d'eau distillée ; on agite. Les résultats peuvent être lus entre la 8^e et la 10^e minute. Il est facile d'effectuer le dosage, au moyen d'un comparateur ; personnellement nous nous servons du comparateur de Cogit, comme nous l'avons indiqué pour le sang.

Il suffit alors de multiplier le taux de dilution de la solution phosphorique par la teneur en acide cholalique de l'étalon de Rose Diazol pour avoir la richesse en acide cholalique de la bile examinée.

B) *Réaction de l'anneau-limite.* — A défaut d'étalons roses on est forcé de recourir à la réaction de l'anneau limite.

Après avoir disposé dans un porte-tubes 12 tubes à hémolyse on verse dans chacun d'eux 0 cc., 25 d'une dilution en milieu phosphorique, au 250^e par exemple ; les dilutions sont ensuite effectuées en ajoutant 0 — 0,25 — 0,50 — 0,75 — 1 centimètre cube etc., d'acide phosphorique pur à 85 %. Les tubes sont ensuite placés au bain-marie bouillant pendant deux minutes, puis refroidis. La solution aqueuse de vanilline à 0 gr. 60 % est alors versée à la partie supérieure de chaque tube au moyen d'une pipette effilée, pour éviter un mélange trop intime ; une légère diffusion est cependant nécessaire ; nous l'obtenons en percutant légèrement chaque tube. Lorsque la réaction est positive, on voit apparaître un anneau rose à la limite de séparation des deux liquides ; vers la 20^e minute les résultats peuvent être lus. Si la réaction est positive dans tous ces tubes, il faut la recommencer en diluant deux ou trois fois plus la bile, au 500^e ou au 750^e, ou en ajoutant le nombre de tubes nécessaire à l'extinction de la réaction.

Sachant qu'une solution artificielle d'acide cholalique dans l'acide phosphorique à 85 % donne un anneau limite correspondant à 4 milligramme d'acide cholalique par litre, il suffit pour connaître la concentration x de la bile en acide cholalique d'appliquer la formule :

$x = 4 \times D \times N$ (D étant la dilution de la solution bile-acide phosphorique et N étant le numéro du tube, numéro qui correspond à la dilution de chaque tube).

C) Technique de caractérisation de l'acide cholalique dans les tissus (Et. Chabrol. R. Charonnat et Jean Cottet).

Prendre une quantité connue, 5 à 10 grammes, de parenchyme finement divisé et broyé ; la mettre en contact avec 30 centimètres cubes d'alcool à 90° durant un laps de temps compris entre 3 à 6 jours. Filtrer. Evaporer à sec soit à l'étuve à 37°, soit au bain-marie bouillant 8 centimètres cubes du filtrat ; reprendre l'extrait sec par 8 centimètres cubes d'acide orthophosphorique à 85 % ; verser dans deux tubes 4 centimètres cubes du mélange obtenu ; dans l'un d'eux ajouter 1 centimètre cube d'une solution aqueuse de vanilline à 0 gr. 60 % en refroidissant le mélange sur un courant d'eau ; dans l'autre, servant de témoin, verser 1 cc. d'eau distillée. Faire l'évaluation colorimétrique entre la 8^e et la 10^e minute, en se servant d'un comparateur comme nous l'avons indiqué pour le dosage du sérum sanguin ou de la bile. Il est également possible de faire cette évaluation par la méthode de l'anneau limite.

Lorsqu'on pratique la réaction phospho-vanillique sur des tissus, surtout s'ils ont été prélevés à l'autopsie, il est indispensable de pratiquer les contrôles de spécificité (voir p. 55 et p. 57) et d'effectuer les réactions de l'indol et de ses dérivés (voir notre communication en collaboration avec Et. Chabrol et R. Charonnat (C. R. Soc. Biol., 1935, p. 980).

CHAPITRE II

ÉTUDE DE LA RÉACTION (1)

A) ÉTUDE QUALITATIVE

1^o Le choix de l'acide.

La plupart des méthodes colorimétriques mettant en évidence les acides biliaires utilisent la réaction se produisant grâce au mélange d'un acide fort et d'un aldéhyde aromatique. Pettenkofer utilisa l'acide sulfurique, Drechsel, Herzfeld et Haemmerli l'acide phosphorique, Fleig, Etcheverry l'acide chlorhydrique. L'acide phosphorique a l'avantage de ne pas carboniser les substances organiques, de ne pas précipiter les albumines du sérum et ne pas produire en étant mélangé au réactif aldéhydique une chaleur excessive. Mais surtout, ainsi que nous le verrons plus loin il possède, associé à la vanilline, une spécificité qui échappe à l'acide sulfurique.

2^o Le choix de l'aldéhyde.

De nombreux aldéhydes de la série aromatique ont été également proposés : le furfurol (Mylius, Udransky), l'aldéhyde anisique (Ville et Derien), la vanilline (Ville et Derien, Inouye et Ito, Meillère). Tous ces auteurs employaient l'acide sulfurique. Mais la réaction acide sulfurique-vanilline révélant d'ailleurs de belles colorations *in vitro*, ne peut être appliquée à la clinique, le cholestérol, entre autres corps, donnant une réaction très voisine de

(1) L'étude chimique de cette réaction sera complètement faite dans la très-prochaine thèse de pharmacie de M. Blonde.

celle des acides biliaires. Nous pensons avoir été les premiers à proposer le mélange vanilline-acide phosphorique : cette association donne des résultats suffisamment sensibles et suffisamment spécifiques pour être utilisés.

Nous avons également essayé les résultats donnés par l'aldéhyde salicylique, l'aldéhyde anisique, l'héliotropine, l'orthovanilline, l'aldéhyde benzoïque, heptylique, cinnamique en les mélangeant avec les acides sulfurique, phosphorique et chlorhydrique. Aucune de ces nombreuses expériences ne nous a paru présenter d'avantages sur la réaction phospho-vanillique.

3^o La qualité de l'acide.

Pour obtenir les plus belles teintes et donc le maximum de sensibilité il faut utiliser l'acide phosphorique pur concentré Poulenc (60^o Baumé).

En effet, il suffit de diluer l'acide avec de l'eau distillée pour avoir des tons différents ; voici les résultats obtenus pour une concentration de 0 gr. 009 d'acide cholalique pur par litre d'acide phosphorique (1) :

(1) Chaque fois que nous donnerons un ou plusieurs nombres pour définir une teinte, ceux-ci auront été obtenus avec le photocolorimètre de M. Toussaint.

Nous rappelons que cet appareil utilise la cellule photo-électrique comme moyen de mesure et non plus l'œil de l'observateur comme les anciens colorimètres à plages lumineuses. Toutes les mesures sont relatives, c'est-à-dire faites par comparaison avec un étalon, l'eau distillée dans le cas qui nous occupe, et successivement dans chacun des six champs du spectre que nous appellerons avec M. Toussaint des « colorations » : violet, bleu, vert, jaune, orangé, rouge. Pour la couleur que nous étudions (rose donnée par l'acide cholalique avec la réaction phospho-vanillique), la dominante, c'est-à-dire la transmission maxima, est le rouge, et l'absorption maxima est dans la complémentaire, c'est-à-dire le vert ; aussi les spectres de transmission en fonction de la concentration sont surtout différents dans la coloration verte. Chacun des chiffres que nous donnons indique en pour cent par rapport à l'eau distillée, le taux minima, dans les différentes colorations du spectre ; le plus souvent nous n'avons étudié cette transmission que dans le vert puisque c'est là que nous trouvons le plus de différence. Nous avons remarqué que l'acide phosphorique, bien que d'apparence incolore, produit déjà une absorption de l'ordre de 5 % par rapport à l'eau distillée et que par conséquent son chiffre de transmission par rapport à l'étalon est de 95. Tout nombre inférieur à ce dernier indique naturellement une absorption plus grande et donc une liqueur colorée.

Acide phosphorique pur	91,2
Acide phosphorique dilué au 1/10	85
Acide phosphorique dilué aux 2/10	91,2
Acide phosphorique dilué aux 4/10	95
Acide phosphorique dilué aux 5/10	98

Ces exemples pourraient faire croire que l'on a intérêt à employer un acide un peu moins concentré que celui que nous proposons. Il n'en est rien. En effet quand nous opérons sur l'extrait sec de sérum nous avons observé que l'emploi d'un acide phosphorique à 60° Baumé, dilué au 1/10 avec de l'eau distillée au moment de l'utilisation, non seulement provoquait un trouble, mais nuisait à l'intensité de la réaction.

4° La quantité de vanilline.

Nous avons remarqué qu'il y a intérêt à employer une solution de vanilline aussi concentrée que possible. Mais la réaction ne se produisant pas si cette dernière est solubilisée dans l'éther, ou s'accompagnant de colorations jaunes parasites si elle est solubilisée dans l'alcool nous proposons une solution à 0 gr. 60 % dans l'eau distillée, bien que l'eau ne soit pas le meilleur solvant de la vanilline.

Pour faire nos dosages nous avons adopté une quantité de 4 cc. d'acide phosphorique, c'est ce qui nous a paru le plus commode pour les lectures colorimétriques. Mais la quantité du réactif vanillique mélangée aux 4 cc. d'acide phosphorique intervient grandement dans l'intensité de la réaction. Nous avons observé, avec le photo-colorimètre de R. Toussaint les variations suivantes, en opérant sur 4 cc. d'acide phosphorique pur contenant environ 0 gr. 010 d'acide cholalique par litre :

Avec 1/2 cc. du réactif vanillique	93	%
Avec 1 cc. du réactif vanillique.....	86,5	%
Avec 1 cm. 1/2 du réactif vanillique.....	92	%
Avec 2 cc. du réactif vanillique (coloration immédiate mais disparaissant aussitôt).		

On voit donc que non seulement la quantité du réactif

vanillique intervient pour modifier l'intensité de la réaction, mais encore intervient pour modifier la rapidité d'apparition de la couleur rose et la rapidité de sa disparition. Observant au photo-colorimètre l'apparition de la couleur de 3 en 3 minutes, nous avons pu voir que plus on employait de réactif plus la couleur apparaissait vite, mais plus vite aussi elle disparaissait. C'est un cc. de réactif vanillique pour 4 cc. d'acide phosphorique qui nous a paru donner les meilleurs résultats.

5° Le temps de chauffage.

La réaction ne se produit pas à froid. Pour quelle apparaisse il faut au préalable chauffer au bain-marie bouillant le mélange d'acide cholalique-acide phosphorique et n'ajouter la vanilline qu'après refroidissement. La durée de cette opération a une influence nette sur l'intensité de la réaction ; avec une solution d'une concentration de 0 gr. 010 ^o/₁₀₀ environ de sels biliaires par litre d'acide phosphorique pur nous avons, toujours en utilisant l'appareil de M. Tous-saint, noté les chiffres suivants :

Pour une	minute de chauffage au bain-marie bouillant.	85,1
— deux	—	84,3
— trois	—	84
— quatre	—	83,7

Nous obtenons donc, pour une même concentration en sels biliaires un rose plus foncé en augmentant le temps de chauffage. Nous voyons cependant que la différence est minime. Aussi nous préférons ne laisser au bain-marie bouillant les tubes contenant le mélange acide-phosphorique-extrait sec du sérum que *deux minutes* ; en prolongeant le temps de chauffage il se produit des teintes parasites dues probablement à une légère carbonisation des substances organiques.

6° Caractéristiques de la couleur.

Nous avons déjà dit que la réaction phospho-vanillique donne naissance, avec les sels biliaires, à une couleur rose

d'autant plus foncée que la concentration en sels biliaires est plus forte. Voyons quelles sont les caractéristiques physiques de cette couleur.

a) *Sa durée.*

La coloration commence à apparaître vers la 1^{re} ou 2^e minute, s'accroît jusque vers la 8^e ou 12^e et disparaît vers la 25^e minute. Nous avons suivi, avec M. Toussaint, de minute en minute l'évolution de la réaction pour une solution de 10 milligrammes d'acide cholalique par litre ; voici les chiffres que nous avons recueillis en étudiant la réaction seulement dans le spectre vert :

Première minute.....	95
Quatrième minute	89
Huitième minute	84
Onzième minute	84,6
Quatorzième minute	85,6
Vingtième minute.....	90
Vingt-troisième minute.....	92
Vingt-sixième minute.....	96

C'est donc de la huitième à la dixième minute que la réaction est la plus intense, c'est aussi la période où elle est, peut-être, le moins instable, c'est à ce moment que nous avons proposé de la lire. Ces chiffres ne valent que pour des solutions dont la concentration en acide cholalique par litre d'acide phosphorique s'étale de 2 à 15 milligrammes. La couleur a une stabilité plus longue pour des concentrations plus fortes. Aussi nous avons proposé, pour les dosages biologiques, des dilutions telles que les lectures soient faites à des concentrations oscillant autour de ces chiffres.

b) *Stabilité de la couleur.*

Si la teinte rose s'efface spontanément au bout de trente à quarante minutes, il suffit également d'ajouter à la liqueur phosphorique une fois la réaction faite, 50 % d'eau distillée pour voir la teinte disparaître immédiatement ; il suffit également de mettre le tube trente secondes dans un bain-marie bouillant pour que toute teinte rose ait disparu.

Ces trois caractères sont importants, ainsi que nous le verrons plus loin, pour affirmer la spécificité de la réaction.

c) *Etude spectroscopique.*

Nous avons envisagé, avec M. Henri Bénard, le spectre d'absorption de la couleur produite par la réaction phospho-vanillique. Les spectres ont tous été analysés à la huitième minute suivant le début de la réaction sous une épaisseur de 15 millimètres.

Pour une concentration de 0 gr. 012 d'acide cholalique par litre d'acide phosphorique toute la partie droite du spectre est obscurcie jusqu'à λ 500 ; pour une concentration de 0 gr. 050 $\text{o}/_{\text{oo}}$ jusqu'à λ 500 avec une zone plus noire entre 800 et 970, par conséquent entre D et E ; même aspect pour une concentration de 0 gr. 25 $\text{o}/_{\text{oo}}$; et pour une concentration de 1 gramme $\text{o}/_{\text{oo}}$ toute la partie droite du spectre est d'un noir franc avec arrêt brusque à λ 500. Nous ne voulons pas reprendre ici les aspects des spectres d'absorption des réactions de Pettenkofer et d'Herzfeld et Haemmerli ; cette étude a été parfaitement réalisée par MM. Gilbert, Et. Chabrol, H. Bénard et Bariéty pour la réaction de Pettenkofer (variante Mylius-Udransky) et par M. Cuny pour toutes les variantes des réactions de Pettenkofer, d'Herzfeld et Haemmerli, d'Inouye et Ito, de Meillère. Disons seulement ici que la réaction d'Inouye et Ito, utilisant l'acide sulfurique et la vanilline donne une image absorbant, comme celle de notre réaction, toute la partie droite du spectre jusqu'à λ 545, avec, en plus, une bande à droite de D, à cheval sur 580. Il était intéressant de faire cette étude. Si notre réaction avait présenté des bandes caractéristiques, nous aurions trouvé là un critère de plus pour assurer au cours des dosages biologiques la spécificité de notre méthode.

d) *Etude colorimétrique.*

La réaction de l'acide cholalique donne naissance à une coloration rose ; si le « foncé » ou « l'absorption de lumière »

PHOTO-COLORIMÈTRE T. C-B

Date _____
 Observateur M TOUSSAINT

ANALYSE DE COULEURS

NATURE des ÉCHANTILLONS

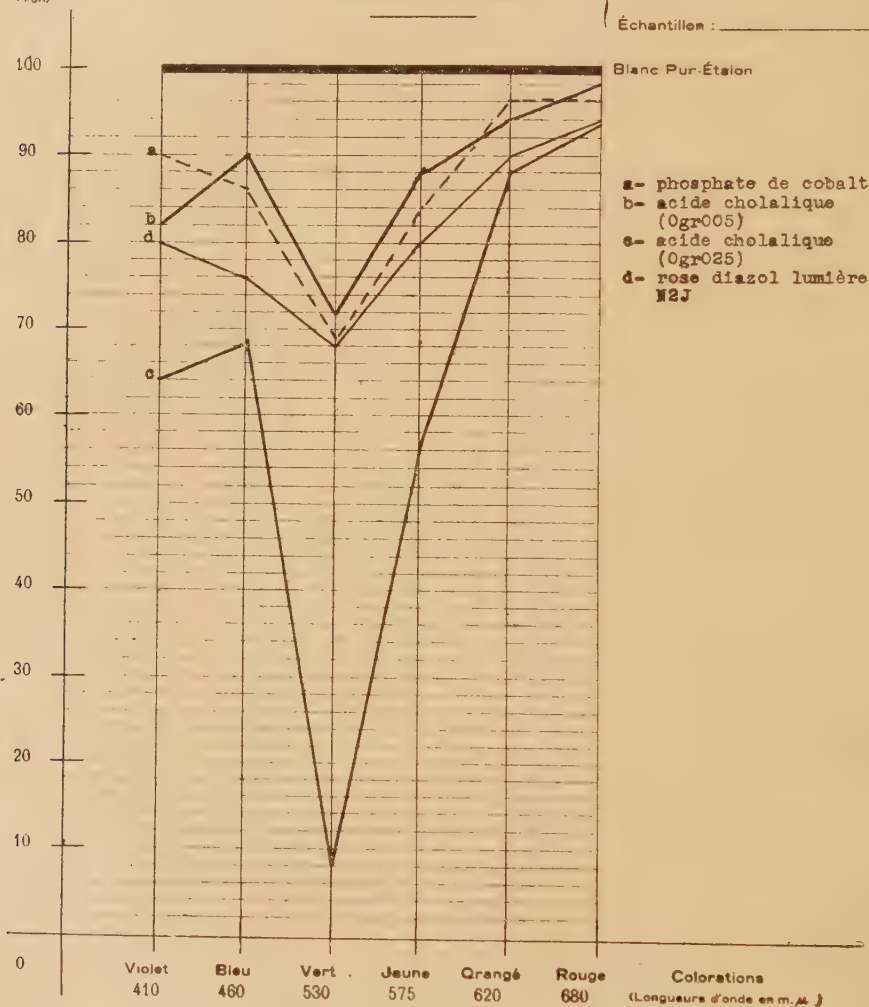
Étalon : eau distillée

Échantillon : _____

intensité
de Transmission
(T_{an})

COURBE DE COULEUR

Blanc Pur-Étalon



- a- phosphate de cobalt
- b- acide cholalique (0gr005)
- c- acide cholalique (0gr025)
- d- rose diazol lumière N2J

Colorations
(Longueurs d'onde en μ)

de cette couleur augmentent avec la concentration de la solution la qualité ne change guère. Il n'en est pas de même dans la réaction de Drechsel, reprise par Herzfeld et Haemmerli et par Chiray et Cuny, où la teinte obtenue varie du bleu au vert suivant qu'il y a plus ou moins d'acides biliaires dans le liquide à éprouver. A l'heure actuelle, nous ne pouvons plus nous contenter pour analyser une couleur d'impressions visuelles et de comparaisons imagées ; cela serait trop imprécis à propos d'une réaction colorée exigeant des étalons comparatifs. Aussi nous sommes-nous adressé à M. Toussaint dont la compétence en colorimétrie est bien connue ; grâce à ses précieux conseils et à son obligeance nous avons pu analyser, avec l'appareil qu'il a mis au point, la couleur de la réaction phospho-vanillique.

On verra en se rapportant à notre figure 1 p. 46 et en détaillant les courbes prises pour des concentrations différentes en acide cholalique que notre réaction colorée présente les caractères suivants : on est d'abord frappé en envisageant la courbe de différentes concentrations (5 et 25 milligrammes) de voir avec quelle rapidité l'absorption dans le vert augmente ; cela indique l'apparence de plus en plus rouge, pour l'œil, au fur et à mesure de l'augmentation de concentration en acide cholalique ; d'autre part on lit encore sur ces courbes un équilibre du bleu-violet et du jaune, ce qui indique que notre couleur tend à la fois vers le violet-bleu et le jaune. Un rose plus pur, tendant vers le rouge, montrerait une transmission nulle dans le violet-bleu.

e) *Les étalons colorés.*

Dans nos premières communications, en collaboration avec MM. Chabrol et Charonnat, nous avons proposé comme étalon le phosphate de cobalt dissous dans l'acide phosphorique (1) ; s'il est apparemment suffisant pour une comparaison, nous nous sommes aperçus en le soumettant à une étude photolorimétrique rigoureuse que sa courbe de couleur n'était pas aussi près de celle de l'acide cho-

(1) Et nous tenons à remercier ici M. Blonde qui a bien voulu étudier notre première échelle d'étalons, en employant, le phosphate de cobalt.

lalique qu'on devait l'exiger. Sa courbe (fig. 1) a une transmission plus grande dans le violet bleu que celle de l'acide cholalique ; en dehors du fait que les deux couleurs (cobalt et réaction phospho-vanillique) ne sont pas superposables, il y a là une cause d'erreur particulièrement dangereuse ; en effet la rétine peu sensible aux courtes longueurs d'onde, confond les tons moyens avec l'absorption lumineuse et l'on peut apprécier l'excès de violet bleu comme du noir ; ainsi on a tendance à trouver la couleur plus foncée qu'elle ne l'est en réalité. -- Enfin le phosphate de cobalt doit être dissous dans l'acide phosphorique et nécessite pour être conservé de grandes précautions.

Aussi après hésitation entre un grand nombre de colorants, nous avons, sur les conseils de M. Toussaint, choisi le Rose Diazol Lumière N° 2 J. Sa couleur et son ton moyen sont très voisins de ceux de l'acide cholalique. La seule différence (voir fig. 1) provient d'une transmission un peu plus grande dans le jaune ; en fait cette différence est sans importance, toutes les rétines ayant une grande sensibilité pour ces longueurs d'ondes. D'ailleurs l'excès de transmission dans le jaune est neutralisé par un léger excès de transmission dans le violet ; aussi cette couleur rose nous a paru se rapprocher, autant que possible, du rose de la réaction phospho-vanillique.

Notons cependant que pour de faibles concentrations en acide cholalique il y a une transmission assez intense dans le jaune alors que pour de fortes concentrations la transmission serait plus marquée dans le bleu-violet. Cela n'a guère d'importance pour des étalons colorés cherchant à reproduire la teinte de la réaction phospho-vanillique s'étalant de 0 gr. 003 $\frac{0}{100}$ à 0 gr. 012 $\frac{0}{100}$. Mais si l'on voulait reproduire les teintes de 0 gr. 001 ou de 0 gr. 10 ou 1 gramme $\frac{0}{100}$ il serait bon d'ajouter dans les tons très faibles un peu de Jaune Diazol Lumière N° 4 J et pour les tons très intenses du Violet-Diazol Lumière N° 4 B.

B) ETUDE QUANTITATIVE

La sensibilité de la réaction phospho-vanillique doit être envisagée différemment suivant que l'on se propose de doser l'acide cholalique dans une solution artificielle, dans la bile ou dans le sérum sanguin.

*
* *

Cette réaction est remarquablement sensible. Elle permet de déceler un millième de milligramme d'acide cholalique par cc. d'acide phosphorique (soit un milligramme par litre). Cependant si l'on emploie la réaction colorimétrique totale, la coloration pour une concentration de 0 gr. 001 d'acide cholalique par litre d'acide phosphorique est si faible qu'on voit à peine la coloration rose ; nous avons vérifié ce fait au photolorimètre en mesurant le degré d'absorption dans le spectre vert sous des épaisseurs de 5 et 10 millimètres ; à l'œil nu on pourrait cependant déceler la réaction rose, pour ce faible taux, en employant des cuves rectangulaires permettant d'analyser le liquide sous une épaisseur de 4 ou 5 centimètres.

Mais en pratique, pour rechercher les très faibles concentrations il nous semble plus simple d'utiliser la méthode de l'anneau limite préconisée, dans le dosage de la bilirubine, par Gilbert, Herscher et Posternack et plus tard par Et. Chabrol, Charonnat et A. Busson. Avec ce procédé la limite de sensibilité de la réaction est de un milligramme d'acide cholalique par litre d'acide phosphorique puisqu'on décèle un millième de milligramme dans un centimètre cube d'acide phosphorique.

*
* *

Lorsqu'on pratique la réaction phospho-vanillique sur le sérum sanguin la limite de sensibilité n'est plus de 0 gr. 001 $\text{o}/_{\text{oo}}$, mais de 0 gr. 004 $\text{o}/_{\text{oo}}$; une déperdition de sels biliaires n'en est pas la cause.

Mais notre procédé de recherche ne peut être directement appliqué sur le sérum ; il faut traiter ce dernier par l'alcool,

pour éliminer les protides ; il faut surtout faire évaporer le filtrat et pratiquer la réaction sur l'extrait sec ; nous avons vu précédemment que l'on devait employer un acide phosphorique très concentré pour que la réaction donne son maximum d'intensité et de sensibilité.

Or, lorsqu'on reprend par 1 cc. d'acide phosphorique concentré le produit d'évaporation de 1 cc. de sérum sanguin, on obtient une liqueur trop pigmentée pour qu'il soit facile de déceler à sa surface un faible anneau rose lorsqu'on y ajoute la vanilline ou pour qu'il soit possible de lire faire une réaction colorimétrique totale. Afin de palier à cet inconvénient, nous reprenons la quantité de résidu sec correspondant à 2 cc. de sérum par 8 cc. d'acide phosphorique concentré à 85 % ayant ainsi d'emblée une dilution au quart ; si nous obtenons une liqueur sur laquelle le dosage est possible, par contre nous ne pouvons mettre en évidence moins de 4 milligrammes d'acide cholalique par litre de sérum (1).

Cette première dilution, qui nous permet de faire la réaction de l'anneau-limite est encore trop concentrée pour une réaction colorimétrique totale. C'est la raison qui nous pousse à faire une seconde dilution au demi, au tiers ou au quart, ce qui amène le sérum à être dilué au huitième, au douzième ou au seizième, suivant les cas.

*
* *

Connaissant l'adhésion étroite des sels biliaires aux substances avec lesquelles ils sont en contact, nous nous sommes demandés si *in vivo* ou pendant le temps nécessaire à la transsudation du sérum il n'y aurait pas une fixation de l'acide cholalique, soit sur les globules rouges, soit sur le coagulum de fibrine. Il ne semble pas que cette adsorption existe. Sur le sérum de deux ictériques nous avons pratiqué notre réaction, aussitôt après la prise de sang (en obtenant

(1) En pratique nous conseillons de rechercher l'anneau-limite sur cette liqueur diluée au demi ; la réaction n'a plus qu'une sensibilité de 0-gr. 008 $\frac{1}{100}$, mais elle est très suffisante pour les besoins de la clinique et la lecture de l'anneau est ainsi très facile.

le sérum par centrifugation rapide) et trente-six heures plus tard après avoir laissé le sérum transsuder spontanément. Nous avons obtenu des chiffres tout à fait comparables.

Une autre expérience nous a montré que les globules rouges ne semblaient pas adsorber l'acide cholalique. A 40 cc. de sang normal rendu incoagulable par du citrate de soude, nous avons ajouté une quantité d'acide cholalique. Nous avons fait aussitôt un prélèvement de 10 cc. de sang sur le plasma duquel l'acide cholalique a été dosé ; un second prélèvement a été fait dans les mêmes conditions douze heures plus tard. Nous avons trouvé :

— Au début 0 gr. 196 par litre de plasma.

— Douze heures plus tard, 0,200 gr. par litre de plasma.

Bariety a constaté les mêmes faits dans sa thèse en employant la méthode stalagmométrique.

On aurait pu encore nous objecter la déperdition possible d'acides biliaires au cours de la précipitation de l'albumine du sérum par l'alcool. Meillère n'a-t-il pas écrit que « toute précipitation effectuée au sein de l'urine entraîne plus ou moins les acides biliaires ». Nous ne pensons pas qu'il y ait là une cause d'erreur.

Nous avons plusieurs fois éprouvé notre méthode en ajoutant artificiellement une quantité connue d'acide cholalique à du sérum de sujets normaux et en le recherchant ensuite par notre méthode. Voici quels sont été les résultats :

Quantité d'acide cholalique ajoutée par litre de sérum	Quantité d'acide cholalique retrouvée
0 gr. 004	0 gr. 004
0 gr. 004	0 gr. 005
0 gr. 005	0 gr. 005
0 gr. 005	0 gr. 006
0 gr. 010	0 gr. 008
0 gr. 010	0 gr. 010
0 gr. 010	0 gr. 010
0 gr. 020	0 gr. 018
0 gr. 020	0 gr. 020
0 gr. 005	0 gr. 005
0 gr. 010	0 gr. 010
0 gr. 040	0 gr. 038
0 gr. 060	0 gr. 064

Les différences existant entre la quantité ajoutée et le taux retrouvé sont tantôt en moins, tantôt en plus et nous paraissent plus en rapport avec l'incertitude d'une réaction colorimétrique qu'avec une déperdition d'acides biliaries au moment de la précipitation des albumines par l'alcool.

Les deux expériences suivantes tendent encore à prouver qu'il n'y a pas déperdition de sels biliaries au cours de la défécation alcoolique :

1^o Après avoir ajouté à 3 cc. de sérum normal une quantité d'acide cholalique correspondant à 0 gr. 040 $\frac{o}{oo}$, nous avons pratiqué la défécation et nous avons repris 20 cc. de ce filtrat ; puis nous avons ajouté la même quantité d'acide cholalique à 20 cc. de filtrat alcoolique de ce sérum n'ayant reçu préalablement aucune addition cholalique : nous avons retrouvé dans les deux cas 0 gr. 040 d'acide cholalique.

2^o Dans une deuxième expérience nous avons additionné d'une même dose d'acide cholalique cinq tubes contenant :

le 1^{er} : 2 cc. de sérum ;

le 2^e : 1 cc. 5 de sérum + 0 cc. 5 d'eau distillée ;

le 3^e : 1 cc. de sérum + 1 cc. d'eau distillée ;

le 4^e : 0 cc. 5 de sérum + 1 cc. 5 d'eau distillée ;

le 5^e : 0 cc. de sérum + 2 cc. d'eau distillée ;

Nous avons fait pour chaque tube un dosage sur une quantité correspondant à un centimètre cube du mélange. Les cinq résultats ayant été identiques et les doses d'albumine ayant été cependant progressivement décroissantes, nous en concluons que la précipitation des protides n'entraîne aucune déperdition de sels biliaries.

On pouvait penser qu'en laissant au contact du filtrat alcoolique le précipité albumineux, ce dernier entraînerait une partie des sels biliaries. Il n'en est rien. Nous avons préparé dans cinq tubes à essais cinq fois 2 centimètres cubes d'un même sérum ictérique que nous avons précipité, à la même heure, par 18 cc. d'alcool à 90° ; nous avons filtré :

Pour un 1^{er} tube immédiatement après défécation ;

pour un 2^e tube une demi-heure après défécation.

pour un 3^e tube une heure après défécation.

pour un 4^e tube une heure et demie après défécation ;
pour un 5^e tube vingt-quatre heures après défécation.
Dans les cinq cas nous avons trouvé le même chiffre de
0 gr. 038.

Les auteurs (voir Historique) qui, avant nous, ont proposé la précipitation alcoolique des protides du sérum conseillent l'emploi d'alcool bouillant et la filtration à chaud. Or il n'y a aucune différence, ainsi que le disent les chiffres suivants, entre l'usage de l'alcool bouillant et de l'alcool froid :

Sérum ictérique précipité par alcool à 90° bouillant....	0 gr. 043
Même sérum précipité par alcool à 90° froid.....	0 gr. 045

Toutes ces expériences prouvent que sur un sérum donné il n'y a pas de déperdition de sels biliaires au cours des différentes manipulations nécessitées par la réaction phospho-vanillique.

*
* *

Mais une autre objection pourrait nous être faite. On sait que lorsqu'on ajoute à un sérum une substance tensio-active (oléate de soude ou sels biliaires), l'étude de la tension superficielle dynamique montre que cette dernière ne diminue que passagèrement et revient rapidement à son point de départ : tout au moins c'est ce que l'on observe avec des concentrations de 0 gr. 01 à 1 gramme de sels biliaires. « Il faut doubler cette dernière quantité pour mettre en évidence un abaissement » (Lecomte du Noüy). Cependant si les sels biliaires sont adsorbés par les albumines et ainsi ne peuvent être mis en évidence par l'étude de la tension superficielle, ils doivent être déplacés au moment de la précipitation alcoolique puisque nous pouvons, par le procédé de réaction phospho-vanillique, mettre aisément en évidence 10 milligrammes par litre de sérum, chiffre qui échapperait totalement à l'étude, la plus fine, de tension superficielle.

*
* *

Mais nous voudrions faire une autre remarque.

Nous avons conseillé pour l'étude des faibles cholalémies l'emploi de la méthode de l'anneau-limite ou réaction zonale. Beaucoup d'objections ont été faites à ce procédé : entre autres on lui a reproché les causes d'erreur dues à la part importante d'appréciation personnelle, à la dilution nécessaire pour éteindre la réaction ; à notre avis ces deux critiques sont faibles ; l'expérience nous a montré que le coefficient personnel intervenait peu ; d'autre part, n'employant l'anneau-limite que pour les faibles concentrations, le facteur dilution ne joue qu'un rôle minime.

Mais il est une cause d'erreur dont aucun auteur ne s'est préoccupé et qui mérite cependant d'être envisagée. On sait que la tension superficielle d'un liquide varie pendant un certain temps lorsqu'il est laissé au repos après avoir été agité : c'est la différence qu'il y a entre les tensions superficielles dynamique et statique : « il y a une adsorption dans la couche superficielle des molécules ayant le pouvoir de diminuer l'énergie totale du système » (Lecomte du Noüy). C'est ainsi que la tension superficielle d'un sérum de lapin peut baisser, en deux heures, de 76 dynes à 58 dynes : mais si le liquide est agité la « tension superficielle remonte aussitôt et peut atteindre sa valeur initiale » (Lecomte du Noüy). Il est bien évident qu'il y a là une cause d'erreur pour une réaction telle que la réaction zonale, visant seulement la surface d'un liquide. Aussi, recommandons-nous d'agiter toujours soigneusement chaque tube avant d'y déposer en surface la vanilline : certes le phénomène se reproduit à nouveau : s'il ne s'agit plus de diminution de tension superficielle, il s'agit de diminution de tension interfaciale. Mais en prenant la précaution de toujours lire la réaction de la 20^e à la 25^e minute après avoir agité les tubes et de déposer aussitôt après la vanilline en surface, la cause d'erreur doit être minime et cela d'autant plus que l'anneau limite, par sa définition même se produit toujours dans un tube de même concentration en acide cholalique, soit 0 gr. 001 o/oo.

CHAPITRE III

SPÉCIFICITÉ DE LA RÉACTION PHOSPHO-VANILLIQUE

Pratiquée sur la bile ou le sang en suivant la technique que nous avons proposée, la réaction phospho-vanillique nous paraît offrir une plus grande spécificité que les réactions de Pettenkofer ou d'Herzfeld et Haemmerli.

Deux corps seulement nous ont semblé pouvoir être gênants : le *tryptophane*, contenu dans les protides, donne en présence de l'acide phosphorique et de la vanilline, une réaction rose, voisine de celle de sels biliaires ; mais le tryptophane et ses dérivés est précipité par l'alcool et n'entre pas dans la réaction ; d'ailleurs sa teinte rose présente trois caractères différenciant sa réaction de celle de l'acide cholalique : elle est stable durant plusieurs jours, alors que celle de l'acide s'atténue au bout d'une demi-heure à une heure ; elle persiste si on la dilue de 50 % avec de l'eau distillée, alors que celle de l'acide cholalique disparaît aussitôt ; elle s'accentue si on chauffe le tube trente secondes au bain-marie bouillant alors que celle de l'acide cholalique s'efface ou jaunit suivant la concentration du liquide. En pratique, nous n'avons jamais rencontré au cours des milliers de dosages pratiqués soit seul, soit avec notre ami Marcel Cachin, sur le sang ou la bile, la réaction du tryptophane.

L'*indoxyle* n'est gênant qu'*in vitro* ; il n'est pas douteux que l'indoxyle sulfate de potasse employé comme étalon dans la réaction de Jolles, modifiée par Grigaut, donne avec l'acide phosphorique et la vanilline une réaction bleue (1), qui, si elle ne peut être confondue avec la couleur donnée par l'acide cholalique dans la réaction phospho-vanillique, en gênerait cependant la lecture. En fait la sensibilité de la

(1) Une légère teinte bleutée apparaît même dès que l'indoxyle est mélangé et chauffé avec l'acide phosphorique, avant l'addition de vanilline.

réaction de l'indoxyl sulfate de potasse avec l'acide phosphorique et la vanilline est faible et inférieure aux taux d'indoxyle qui peuvent être rencontrés dans le sang. On sait qu'à l'état normal et dans la plupart des maladies, il y a moins de 0 mmgr. 5 d'indoxyle dans le sérum humain ; comme on n'en rencontre guère que chez les brightiques, nous avons pratiqué la réaction phospho-vanillique sur le sérum de quatre grands urémiques dont l'azotémie était de 2 gr. 05, 2 gr. 70, 3 gr. 05 et 3 gr. 40 pour des indoxylémies variant de 15 à 28 milligrammes (dosées par la méthode de Jolles) : dans ces quatre cas la réaction phospho-vanillique a été franchement négative.

D'ailleurs, si nous en croyons les travaux de Guy Laroche et Grigaut, Sérane et Maire, Thiers, Giraud, M^{lle} Giraud et Pierre Monnier, il est exceptionnel de trouver de l'indoxyle chez les hépatiques.

L'indol, *le scatol*, par contre, donnent avec l'acide phosphorique et la vanilline, une réaction d'une sensibilité extrême ; mais on sait qu'on n'en trouve jamais ni dans le sang, ni dans la bile. D'ailleurs sa réaction est plus orangée que rose, aussi stable que celle du tryptophane, ne disparaît pas si elle est diluée avec 50 % d'eau, se manifeste à froid et résiste à la chaleur.

D'autres substances, étudiées *in vitro* par M. Charronat, pourraient induire en erreur ; mais elles nous importent peu puisqu'on ne les rencontre pas dans les liquides biologiques ; ce sont les alcools terpéniques (menthol, bornéol, dérivés du camphre, saponines), certains polyphénols (résorcine, phoroglucine et dérivés), quelques alcaloïdes (ergotinine, cinchonamine, yohimbine). Toutes ces substances donnent une coloration rouge violet ou orangée lorsqu'on pratique la réaction phospho-vanillique dans les conditions où nous opérons ; avec les amines aromatiques et leurs dérivés (antipyrine, cryogénine) on observe une coloration jaune.

Nous ne nous étendrons pas plus sur la spécificité de cette réaction. M. Blonde devant, très prochainement, dans sa thèse de pharmacie analyser les caractéristiques chimiques de la réaction phospho-vanillique, fera une étude beaucoup

plus complète que nous ne pourrions le faire de sa spécificité.

Bornons-nous à souligner ce fait : la réaction est *toujours négative sur le sérum des sujets normaux ou des malades indemnes d'affection hépatique ou des voies biliaires* ; une telle régularité nous semble un argument de valeur en faveur de sa spécificité. En tout cas, pour dire qu'une réaction colorée apparaissant au cours de la réaction phosphovanillique est due à l'acide cholalique, nous exigeons les six caractères suivants :

1^o *La coloration ne doit apparaître, après le mélange acide phosphorique-réactif vanillique, que si la liqueur phosphorique a été préalablement mise au bain-marie bouillant.*

2^o *La coloration ne doit pas apparaître spontanément au cours du chauffage de la liqueur phosphorique.*

3^o *La coloration doit être rose.*

4^o *La coloration doit s'effacer si la liqueur phosphorique est diluée de moitié avec de l'eau distillée.*

5^o *La coloration doit s'effacer si le tube dans lequel elle est apparue, est porté 30 secondes au bain-marie bouillant.*

6^o *La coloration doit s'effacer, spontanément, au bout d'une demi-heure, trois quarts d'heure.*

TROISIEME PARTIE

ÉTUDE CLINIQUE DE LA CHOLALÉMIE

CHAPITRE PREMIER

LA CHOLALÉMIE A L'ÉTAT PHYSIOLOGIQUE (1)

A) Chez l'homme.

Ainsi que nous l'avons exposé en passant en revue les différentes méthodes de recherche des acides biliaires dans le sérum sanguin, la cholalémie physiologique a été différemment évaluée suivant les techniques proposées (voir le chapitre III de la première partie).

La réaction phospho-vanillique est négative chez les sujets normaux ; nous l'avons éprouvée dans vingt cas, et dans aucun de ces vingt sérums d'adultes, nous n'avons pu déceler d'acide cholalique.

Nous ne voudrions cependant pas conclure que le sérum sanguin en est dépourvu, la limite de sensibilité de notre méthode étant pratiquement de 0 gr. 008^o/₁₀₀ (2). Il est possible que la cholalémie physiologique soit inférieure à ce chiffre. Notons simplement qu'il est anormal de trouver une réaction phospho-vanillique positive sur un sérum sanguin humain.

(1) Le terme de *cholalémie* ou de *cholémie saline* ne vise que la présence d'acide cholalique dans le sérum, celui de *bilirubinémie* ou de *cholémie pigmentaire* que celle de bilirubine ; celui de *cholémie* vise la présence simultanée de bilirubine et d'acide cholalique.

(2) Dans certaines conditions expérimentales, on peut pousser jusqu'à 0 gr. 004 cette limite de sensibilité.

B) Chez le chien.

Par contre, le sérum de chien nous a toujours donné une réponse positive. Chez six chiens normaux, nous avons obtenu avec le sang de la saphène des chiffres oscillants entre 0 gr. 028 et 0 gr. 036 ‰ d'acide cholalique.

Nous nous sommes demandé si la cholestémie était la même suivant les territoires veineux explorés. Les chiffres que nous avons obtenus sont pour la plupart voisins les uns des autres ; seules les artères pulmonaires et la veine sus-hépatique donnent des chiffres plus faibles ; mais nous ne voulons en tirer ici aucune conclusion, notre étude reposant sur un nombre trop minime de cas .

Voici nos chiffres :

	Chien 1	Chien 2	Chien 3
Artère fémorale.....	0,028	0,030	0,032
Veine saphène.....	0,032	0,030	
Veine sus-hépatique.....	0,026	0,020	0,010
Veine porte.....	0,033	0,032	0,032
Veine cave inférieure (étage sous-diaphragmatique).....	0,036		0,024
Veine splénique.....	0,036	0,036	
Artère splénique.....	0,036	0,036	
Veine pulmonaire.....			0,024
Artère pulmonaire.....			0,016

Il est curieux de souligner le contraste qui existe entre les cholestémies du chien et celles de l'homme. Chez l'homme la cholestémie physiologique pigmentaire s'élève à 0 gr. 016 (Et. Chabrol et A. Busson), alors que la réaction phosphovanillique est négative ; chez le chien le sérum semble complètement dépourvu de pigments biliaires alors que la cholestémie saline atteint 0 gr. 030 ‰ en moyenne. Faut-il chercher cette opposition dans la différence de composition de la bile ? Un litre de bile humaine renferme, pour 0 gr. 50 à 1 gramme de bilirubine, 2 à 4 grammes d'acide cholalique, alors que pour 1 gramme de bilirubine il y a dans la bile de chien 8 à 9 grammes d'acide cholalique.

C) Chez le lapin.

Nous avons examiné le sang carotidien de quatre lapins. Chez ces quatre animaux, la réaction phospho-vanillique a été, comme chez l'homme, négative.

*
* * *

Il est curieux de signaler que l'organisme, aussi bien chez l'homme que chez le chien, tend avec une grande rapidité à se débarrasser de l'acide cholalique qui y est introduit artificiellement. Ayant suivi la courbe de disparition de 0 gr. 50 d'acides biliaires injectés par voie veineuse, nous avons observé chez deux sujets normaux les chiffres suivants :

G... 23 ans ; convalescence d'intoxication par le dial :

	Cholalémie
	—
Avant l'injection.....	0
Dix minutes après.....	0 gr. 040
Vingt minutes après	0 gr. 008

F... 60 ans ; ulcère variqueux :

	Cholalémie
	—
Avant l'injection.....	0
Quinze minutes après	0 gr. 042
Vingt-cinq minutes après.....	0 gr. 010

La même constatation a été renouvelée chez deux chiens de 20 kilogrammes qui avaient reçu dans la veine saphène 0 gr. 250 d'acide cholalique.

Voici l'une de nos expériences :

	Cholalémie
	—
Avant l'injection.....	0 gr. 028
Huit minutes après.....	0 gr. 032
Dix-sept minutes après	0 gr. 036
Vingt-cinq minutes après	0 gr. 024

Que devient l'acide cholalique ? Disparaît-il dans les tissus ? Nous envisagerons cette hypothèse dans la IV^e partie de notre travail. Sont-ils rapidement éliminés par les urines ? M. Maximin a montré dans sa thèse que chez l'homme normal comme chez le chien, dans les heures suivant une injection intraveineuse de sels biliaires, la tension superficielle de l'urine subit des dénivellations pouvant aller de 947 à 711 ; nous ne pouvons savoir, faute de méthode de dosage, quelle quantité de sels biliaires est ainsi rejetée ; toutefois il ne semble pas que ce soit une forte proportion de l'acide cholalique introduit.

Cet acide est-il éliminé par la glande hépatique ? Nous avons vu avec MM. Et. Chabrol et Marcel Cachin que chez le chien, après une injection intra-veineuse d'acide cholalique, non seulement le débit biliaire pouvait être triplé ou quadruplé, mais que la concentration de la bile en acide cholalique augmentait malgré l'élévation du débit hydrique ; cependant l'augmentation notée dans la bile reste très inférieure à la quantité injectée.

Dans cette thèse où nous comparerons sans cesse la bilirubine et l'acide cholalique, nous voudrions montrer combien ces deux corps se comportent différemment : 0 gr. 50 d'acide cholalique injectés dans la veine du pli du coude disparaissent en trente minutes du sang alors que 0 gr. 050 de bilirubine (c'est-à-dire dix fois moins), mettent quatre heures à disparaître ainsi que Bergmann et Eilbott l'ont montré. Quelquefois même, si l'on en juge par les expériences de Et. Chabrol, A. Busson, et M. Cachin on assiste à l'apparition sanguine d'une quantité supplémentaire de bilirubine qui était en réserve dans le système lacunaire.

Ces faits d'ordre physiologique sont en accord avec ce que l'on observe à l'état pathologique : quel que soit le degré de l'ictère il y a toujours une faible rétention de sels par rapport aux pigments (tout ictère est dissocié au profit des pigments (Chabrol et Bénard)), comme si les humeurs de l'organisme, par un mécanisme qui nous échappe encore, faisaient un effort pour se débarrasser de l'acide cholalique.

CHAPITRE II

LA CHOLALÉMIE DES ICTÉRIQUES (1)

Avant d'aborder l'étude analytique de la cholalémie des hépatiques, il nous semble logique de dire comment, dans ses grands traits, nous envisageons les rapports des sels et des pigments dans le sérum.

C'est au cours des ictères que sont rencontrées les plus fortes cholémies salines ; cependant les plus intenses, celles de l'ictère par cancer de la tête du pancréas, restent toujours inférieures à ce qu'on pourrait supposer ; elles sont de 8 à 10 fois plus faibles que la bilirubinémie, alors qu'on aurait pu les supposer plus fortes puisque la bile est plus riche en sels qu'en pigments biliaires.

MM. Et. Chabrol et H. Bénard ont les premiers, dès 1920, exprimé ce fait en disant que tout *ictère était dissocié au profit des pigments*. En d'autres termes, dans le sérum de tout ictérique il y a beaucoup plus de pigments que de sels. Ayant à établir au cours de ce chapitre sur les ictères des degrés dans la dissociation pigmento-cholalique, nous prendrons pour type de dissociation le cancer de la tête du pancréas ; en effet, c'est l'ictère le plus complet, le plus franc, celui où sûrement tous les principes biliaires sont retenus ; pourtant dans ce type de jaunisse on ne décèle en général que 0 gr. 100 à 0 gr. 180 de sels biliaires pour 1 gramme à 1 gr. 80 de pigments. Nous dirons que la dissociation *pigmento-cholalique est « relative »*. Mais il existe certaines variétés d'ictères dans le sang desquels il y a beaucoup de pig-

(1) La bilirubine a été dosée parfois, par le procédé de Fouchet, le plus souvent par la diazo-réaction limite de Et. Chabrol, R. Charonnat et A. Busson ; le cholestérol a été dosé par la méthode de Grigaut.

ments, presque autant que dans le cancer du pancréas, 1 gr. $\frac{0}{100}$ par exemple, et où cependant la cholalémie, par rapport à la bilirubinémie, est très faible, 0 gr. 020 à 0 gr. 050 par exemple ; nous appellerons cette dissociation *dissociation accentuée*.

Enfin, parfois le sérum ne contient que des pigments, 0 gr. 50, 1 gramme, 1 gr. 50 même, tout en étant complètement dépourvu d'acide cholalique ; nous appellerons cette dissociation pigmento-cholalique *dissociation absolue*.

Que ces dissociations soient relatives, accentuées ou absolues, elles n'offrent de valeur diagnostique, que lorsque la cholémie pigmentaire est nette, dépassant par exemple 0 gr. 300 $\frac{0}{100}$. Au-dessous de ce chiffre les dissociations ne fournissent guère d'indication pour le diagnostic différentiel de la maladie (1).

*
* *

Dans l'étude de la cholalémie des ictères, nous grouperons les faits en quatre catégories : 1^o les *ictères hémolytiques et les ictères congénitaux* ; 2^o les *ictères par obstruction cholédocienne* ; 3^o *ictères catarrhaux* et 4^o les *ictères infectieux*.

I. — Ictères hémolytiques et congénitaux.

Nous ne détaillerons pas nos observations d'ictères hémolytiques et congénitaux ; elles n'offrent rien de particulier au point de vue clinique. Disons seulement, pour situer l'intensité de la jaunisse, que dans nos cinq cas la bilirubine

(1) La perspective de ces relations pigmento-cholaliques nous avait fait envisager la possibilité d'établir un rapport $\frac{\text{bilirubine}}{\text{acide cholalique}}$, qui aurait exprimé par un chiffre ce que nous traduisons par des mots. Malheureusement un tel rapport n'aurait pas eu de signification. En effet, les dissociations n'ont de valeur diagnostique que lorsqu'on note des chiffres élevés de pigments (plus de 0 gr. 300) ; c'est ainsi que 1 gr. 50 de bilirubine pour 0 gr. 150 d'acide cholalique, dissociation relative, donnerait un rapport de 10, chiffre également donné par un sérum contenant 0 gr. 040 de pigments biliaires et 0 gr. 004 de sels biliaires ; le premier malade peut avoir un cancer des voies biliaires et le second une cirrhose de Laënnec. C'est pourquoi, nous le répétons, les dissociations pigmento-cholaliques n'ont d'intérêt que pour différencier entre eux certains types d'ictère.

binémie oscillait entre 0 gr. 080 et 0 gr. 120. Cependant sur le sérum d'aucun de nos malades nous n'avons pu mettre en évidence de sels biliaires. Le fait est d'ailleurs en accord avec les enseignements classiques ; MM. Widal, Abrami et Brulé ont, les premiers, montré qu'au cours de ces ictères, manquait tout signe de rétention sanguine des sels biliaires.

II. — Ictères par obstruction cholédocienne.

Nous avons observé vingt-cinq malades atteints d'ictère par rétention relevant d'une obstruction du canal cholédoque. Ils se répartissent ainsi :

Calcul du cholédoque.....	3 cas
cancer du pancréas	9 »
Métastase cancéreuse hépatique ou biliaire.....	4 »
Pancréatite ictérigène.....	2 »
Kyste hydatique avec ictère	2 »
Cholédocite	2 »
Cancer des voies biliaires.....	3 »

Il ressort de nos chiffres qu'au cours de ces ictères, la cholémie saline existe dans 23 cas (voir tableau I) et qu'elle atteint le maximum d'élévation observée en pathologie humaine : le taux de 0 gr. 160 a été trouvé dans un cas de cancer du pancréas (obs. 176, tableau I). Vient ensuite un calcul du cholédoque (obs. 171, tableau I) qui nous donne 0 gr. 128, 0 gr. 144 et 0 gr. 136. La cholalémie des autres malades oscille de 0 gr. 080 à 0 gr. 130.

Cette cholalémie est rapidement ascendante pendant la première semaine ; elle arrive vite à son taux maximum ; chez un de nos ictériques (observation 100 tableau I), atteint de cancer pancréatique, elle fut comprise entre 0 gr. 088 et 0 gr. 128, durant la période de quinze jours où le taux des pigments sanguins passa de 0 gr. 200 à 0 gr. 800 ; dans un cas d'obstruction calculeuse, elle monta de 0 gr. 128 à 0 gr. 144 pour une cholémie pigmentaire passant de 0 gr. 80 et 0 gr. 85. Nous avons constaté avec M. Brulé des chiffres très voisins pour deux malades chez lesquels nous avons porté le diagnostic de cholédocite (obs. 279 et 280, tableau I).

Au fur et à mesure que la jaunisse se prolonge on peut

T A B L E A U N° I
ICTERES CHOLOSTATIQUES

DIAGNOSTIC	Date de l'ictère	Sels biliaires.	Bilirubine.	Commentaires.
OBS.44 - Cancer du rectum non opéré - ictère - Foie débordant le rebord costal de 12 cms.	13e jour	0 gr 133	0 gr 800	
	22e jour	0 gr 114	0 gr 800	
OBS.58 - Cancer du pancréas	9e jour	0 gr 080	0 gr 98	
	30e jour	0 gr 060	<u>I</u> 2.500	
OBS.60 - Pancréatite chez un syphilitique (intervention exploratrice) M. Bergeret	20e jour	0 gr 083	0 gr 50	chol. 2 gr14
OBS.100- Cancer d'estomac avec métastases hépatiques. Meurt le 36° jour	5e jour	0 gr 088	0 gr 20	chol. 1 gr58
	14e jour	0 gr 128	0 gr 80	
	22e jour	0 gr 112	1 gr --	3 gr30
	29e jour	0 gr 096	1 gr 14	2 gr50.
	35e jour	0 gr 082	1 gr 60	
OBS.130 - Kyste hydatique (opération M. Moulonguet)		0 gr 056	<u>I</u> 15.000	
		0 gr 020	<u>I</u> 85.000	
OBS.137 - Kyste hydatique(oper.M. Moulonguet)	6e jour	0 gr 064	<u>I</u> 7.500	
	12e jour	0 gr 080	<u>I</u> 3.000	
OBS.176 - Cancer du pancréas . Meurt le 35° jour	25e jour	0 gr 128	1 gr 33	
	31e jour	0 gr 160	1 gr 60	
OBS.171 - Cancoul du cholédoque(opéré par M. Seillie) Opération le 30e jour Meurt le 46e jour	8e jour	0 gr 048	0 gr 53	
	14e jour	0 gr 128	0 gr 80	
	28e jour	0 gr 144	0 gr 85	
	30e jour	0 gr 136	0 gr 85	
	42e jour	0 gr 056	0 gr 071	
	46e jour	0 gr 056	0 gr 056	
OBS.181 - Cancer du pancréas	10e jour	0 gr 088	0 gr 40	
	18e jour	0 gr 064	0 gr 85	
OBS.201 - Cancer du pancréas	44e jour	0 gr 060	1 gr --	
OBS.203 - Cancer du pancréas	48° jour	0 gr 070	0 gr 900	

Tableau I (suite)

DIAGNOSTIC	Date de l'ictère	Sels biliaires	Bilirubine.	Commentaires
OBS.210 - Calcul du cholédoque .	80e jour	0 gr 072	0 gr 760	
OBS.228 - Cancer du pancréas .		0 gr 075	0 gr 600	
OBS.229 - Pancréatite scléro-lipomatuse		0 gr 054	0 gr 500	
OBS.241 - Cancer du pancréas - Cholécystoduodénostomie , le 25-1-35	23-1-35	0 gr 128	0 gr 900	
	2-2-35	0 gr 048	0 gr 200	
	20-2-35	0 gr 080	0 gr 200	
OBS.242 - Cancer de l'estomac et du foie		0 gr 056	0 gr 660	
OBS.245 - Cancer du pancréas		0 gr 056	0 gr 500	
OBS.249 - Cancer des voies biliaires	16-2-35	0 gr 112	très jaune	
OBS.279 - Cholelithose	18e jour	0 gr 040	0 gr 333	tubage duodénal
	21e jour	0 gr 016	0 gr 200	
	25e jour	0 gr 032	0 gr 660	
	28e jour	0 gr 084	0 gr 800	tubage
	30e jour			tubage
	35e jour	0 gr 050	0 gr 333	
	43e jour		0 gr 400	
	47e jour	0 gr 012	0 gr 220	tubage
	53e jour	0 gr 028		
	61e jour	0 gr 032	0 gr 075	
	65e jour	0 gr 030	0 gr 066	tubage
	72e jour	0 gr 030	0 gr 080	tubage
	78e jour	0 gr 040	0 gr 066	
	98e jour		0 gr 037	
OBS.280 - Cholelithose	2e jour	0 gr 072	0 gr 675	
	10e jour	0 gr 104	1 gr 20	
	12e jour			tub. duod.
	14e jour	0 gr 030	0 gr 660	tubage
	22e jour		0 gr 280	
	27e jour	0 gr 020	0 gr 336	
	50e jour		0 gr 028	
OBS.282 - Cancer de la tête du pancréas	20e jour	0 gr 054	0 gr 800	
	27e jour	0 gr 054	0 gr 887	
OBS.284 - Calcul du cholédoque	7e mois	0 gr 156	0 gr 980	
OBS.286 - Cancer saisonnière du foie		0 gr 060	1 gr 33	
		0 gr 090	1 gr 33	

T A B L E A U N° II

ICTÈRES CATARRHAUX

DIAGNOSTIC	Date de l'ictère	Acide icholalique.	Bilirubine	Commentaires
OBS. 3 - Ictère catarrhal	10e jour	0 gr 045		
OBS. 4 - Ictère catarrhal	6e jour 10e jour 17e jour	0 gr 065 0 gr 020 0 gr 000	0 gr 286 0 gr 284 0 gr 057	
OBS. 5 - Ictère catarrhal	6e jour 13e jour	0 gr 033 0 gr 100	0 gr 576	
OBS. 6 - Ictère catarrhal	10e jour 16e jour	0 gr 120 0 gr 129	0 gr 800 0 gr 760	
OBS. 7 - Ictère catarrhal	10e jour	0 gr 120	0 gr 800	
OBS. 8 - Ictère catarrhal	7e jour 14e jour 51e jour	0 gr 090 0 gr 138 0 gr 000	0 gr 450 0 gr 660 0 gr 160	
OBS. 81 - Ictère durant 6 jours	3e jour	0 gr 000	$\frac{I}{20.000}$	
OBS. 85 - Ictère catarrhal	7e jour	0 gr 144	$\frac{I}{10.000}$	
OBS. 86 - Ictère catarrhal	13e jour	0 gr 080	$\frac{I}{10.000}$	
OBS. 87 - Ictère catarrhal	35e jour	0 gr 024	$\frac{I}{15.000}$	cholesterol 1,82
OBS. 88 - Ictère Catarrhal	9e jour	0 gr 064	$\frac{I}{10.000}$	crise urinaire 16e jour
OBS. 105 - Ictère catarrhal	20e jour	0 gr 064	$\frac{I}{2.000}$	
OBS. 110 - Ictère catarrhal	5e jour 8e jour 17e jour	0 gr 120 0 gr 056 0 gr 018	0 gr 333 0 gr 260 0 gr 066	
OBS. 168 - Ictère catarrhal	8e jour	0 gr 052	0 gr 160	

Tableau II (suite)

DIAGNOSTIC	Date de l'ictère	Acide cholalique	Bilirubine	Commentaires
OBS.169 -Ictère catarrhal	20e jour	0 gr 022	0 gr 088	
OBS.192 -Ictère catarrhal	20e jour 30e jour	0 gr 024 0 gr 020	0 gr 160 0 gr 036	cliniquement le malade est déjauni
OBS.323 -Ictère catarrhal	28e jour		0 gr 080	
OBS.246 -Ictère catarrhal prolongé	15e jour 20e jour 28e jour	0 gr 048 0 gr 000 0 gr 000	0 gr 724 0 gr 660 0 gr 400	
OBS.265- Ictère catarrhal prolongé	30e jour 35e jour 42e jour 46e jour 63e jour 75e jour	0 gr 048 0 gr 052 0 gr 044 0 gr 000 0 gr 000 0 gr 019	I gr 33 I gr 33 0 gr 800 0 gr 444 0 gr 333	
OBS.268 -Ictère catarrhal	17e jour 23e jour 30e jour 33e jour 52e jour	0 gr 040 0 gr 020 0 gr 048 0 gr 000 0 gr 028	0 gr 660 0 gr 660 0 gr 500 0 gr 500 0 gr 250	
OBS.267- Ictère catarrhal	11e jour	0 gr 120	0 gr 400	

TABLEAU N° III

ICTERES INFECTIEUX.

DIAGNOSTIC	Date de l'ictère	Acide cholalique	Bilirubine	Commentaires
OBS.77 - Ictère infectieux détiologie inconnue	8e jour 15e jour 20e jour 31e jour	0 gr 030 0 gr 020 0 gr 012 0 gr 036	0 gr 666 0 gr 510 0 gr 330 0 gr 400	
OBS.112- Ictère durant quelques jours, apparu en même temps qu'une congestion pulmonaire après gastroectomie pour ulcus	3e jour	0 gr 036	<u>I</u> 25.000	

Tableau N° III (suite)

DIAGNOSTIC	Date de l'ictère	Acide Cholalique	Bilirubine	Commentaires
OBS.166 - Ictère durant 9 jours	8e jour		I 20.000	crise urinaire le 7e jour
OBS.170 - Ictère avec streptococcémie	8e jour 16e jour 19e jour	0 gr 016 0 gr 024 0 gr 000	0 gr 425 0 gr 830 0 gr 660	Azotémie: 0,20 pas d'albumine - Azotémie: 10,24
OBS.178 - Spirochétose ictéro-hémorragique séro-diagnostic +	5e jour 10e jour 16e jour 26e jour 41e jour 46e jour	0 gr 034 0 gr 034 0 gr 030 0 gr 028 0 gr 000 0 gr 000	0 gr 80 0 gr 66 0 gr 20 0 gr 16 0 gr 040	azotémie 1,25 2,5 0,59 0,19 0,3
OBS.196 - Entre le 1er décembre 1934 au 4e jour d'un ictère fébrile -Selle recolorée le 7 décembre - crise urinaire le 3 décembre	7-2-34	0 gr 000	0 gr 100	
OBS.200 - Ictère infectieux d'étiologie inconnue	21-12-35 23-12-35	0 gr 024 0 gr 024	0 gr 104 0 gr 240	
OBS.208- Ictère fébrile ayant duré 6 jours	24-12-34	0 gr 000	0 gr 100	
OBS.218 - Spirochétose ictéro-hémorragique séro-diagnostic +	5-3-35	0 gr 060	0 gr 660	
OBS.235 - Hépto-néphrite d'origine indéterminée . Séro-diagnostic de la spirochétose négatif	2e jour 5e jour 14e jour 28e jour	0 gr 012 0 gr 012 0 gr 000 0 gr 000	0 gr 400 1 gr 14 0 gr 845 0 gr 150	azotémie 1,25 0,40
OBS. 289 -Ictère terminal chez un asystolique	5e jour 10e jour 14e jour	0 gr 020 0 gr 045 0 gr 012	0 gr 185 0 gr 670 1 gr 600	mort le 15e jour
OBS.302 - Spirochétose ictéro-hémorragique	10e jour	0 gr 020	0 gr 760	

voir le taux des acides biliaires du sang baisser légèrement tandis que celui des pigments ne subit guère de variations ou continue à augmenter ; il en fut ainsi, dans notre observation 100. Ces faits ne sont pas nouveaux. Van Noorden, Gouget, Brulé, Et. Chabrol, Bariéty, Doumer ont justement insisté sur eux. Mais ce ne sont, à vrai dire, que des exceptions ; ainsi dans notre observation 58, on note une augmentation progressive, jusqu'à la mort, des sels et des pigments ; nous venons d'observer, dans le service de M. Brulé un malade qui, bien qu'au 7^e mois d'un ictère par obstruction, avait encore 0 gr. 156 de sels biliaires pour une bilirubinémie de 1 gr. 20.

Trois de nos malades ont été opérés : observation 130, 171, 241 (tableau I). Durant leur convalescence nous avons assisté à une baisse de l'acide cholalique du sang en rapport avec celle des pigments.

Ces faits mettent bien en évidence la dissociation relative pigmento-cholalique des ictères cholostatiques ; mais nous pouvons aujourd'hui, grâce à une technique plus sensible et plus précise en faire une étude plus détaillée que celle de Et. Chabrol et H. Bénard.

Au cours de ces ictères cholostatiques, la bilirubine est sept à dix fois plus abondante que l'acide cholalique dans un litre de sérum. Cette dissociation est bien étonnante, lorsqu'on se rappelle que le rapport est inverse dans la bile dont un litre contient, en moyenne, pour 1 gramme de bilirubine 4 à 5 grammes d'acide cholalique. (dosé par la réaction phospho-vanillique d'Et. Chabrol, Charonnat, Jean Cottet et M. Cachin).

Nous pouvons écrire, sans trop schématiser, qu'au cours des ictères par obstruction, il y a une dissociation pigmento-cholalique relative dans le rapport de 1 à 6 ou 10 : la cholestémie se maintient aux environs de 0 gr. 080 à 0,120 pour une bilirubinémie de 0 gr. 800 à 1 gr. 20 ; Dans un seul cas nous avons assisté à une diminution nette de l'acide cholalique, malgré une augmentation de la bilirubine (obs. 100, tableau I), mais on notait encore le chiffre élevé de 0 gr. 080 de sels biliaires, la veille de la mort le 3^e jour.

Au cours des ictères par obstruction les sels biliaires ne sont absents du sang *que dans les cas où l'ictère se prolonge pendant des mois et où le malade devient très cachectique.*

Dans les deux observations suivantes, recueillies dans le service de M. Brulé, nous avons noté une *dissociation pigmento-cholalique accentuée dans un cas, absolue dans l'autre* ; — nos malades étaient tous deux au quatrième mois de leur jaunisse et dans un état de cachexie avancée :

OBS. 299. — Sch... 52 ans.

Était entré dans le service pour un ictère datant de quatre mois ; son foie était gros et dur ; il y avait de l'ascite et des œdèmes des membres inférieurs. La bilirubinémie était de 1 gr. 20 et la cholalémie de 0 gr. 026.

Autopsie. — Douze litres d'ascite s'écoulent à l'ouverture de l'abdomen. Le foie est très augmenté de volume. Le pédicule hépatique est noyé dans une gangue d'un tissu très dur ; d'aspect cancéreux ; il est impossible de dissocier la veine porte du cholédoque.

Histologie. — L'architecture du lobule hépatique est complètement bouleversée. Dégénérescence graisseuse du parenchyme. La masse englobant le pédicule a un aspect épithéliomateux.

OBS. 300. — K... 54 ans.

La malade, très cachectique, entre dans le service pour une jaunisse datant de quatre mois. Le foie très augmenté de volume semble de consistance normale. La vésicule, grosse et très dure, est facilement perceptible ; la radiographie montre d'ailleurs qu'elle est bourrée de calculs. La bilirubinémie s'élève à 1 gr. 30, la réaction phospho-vanillique est négative ainsi que la réaction de Hay dans les urines.

Opération (M. Moulonguet).

Vésicule remplie de calculs (une cinquantaine) — un gros calcul dans le cholédoque — cancer probable du cystique et de l'hépatique.

Examen histologique pratiqué et interprété par M. André Dreyfuss (Biopsie du foie).

L'architecture du lobule est nettement reconnaissable. Toutefois on constate, dès l'abord, une augmentation très nette du tissu conjonctif tant au niveau des espaces de Kiernan que des espaces sus-hépatiques ; d'autre part, entre les travées hépatiques, un colo-

rant approprié (trichrome de Masson) met en évidence de nombreuses fibrilles conjonctives adultes. Les sinusoides sont élargies et renferment un assez grand nombre de polynucléaires.

Les cellules hépatiques elles-mêmes offrent des altérations de degrés divers ; peu altérées autour des espaces portes elles présentent, au contraire, des lésions notables autour des espaces sous-hépatiques et surtout en un point de la préparation où on aperçoit de grosses branches d'origine du canal hépatique. En ces divers endroits on note que les cellules sont claires et de taille accrue et que d'autre part une prolifération plus sensible des fibrilles conjonctives les dissocie les unes des autres et en quelques régions disloque complètement les travées hépatiques. Enfin il existe une dilatation des canalicules biliaires et le parenchyme est semé de grains de pigments.

En résumé : *foie de cholostase avec lésions parenchymateuses incipientes portant à la fois sur la cytologie de la cellule hépatique et sur son organisation cellulaire.*

*
* *

S'il est pratiqué sur le chien une ligature du canal cholédoque après exclusion de la vésicule, on constate dans les jours suivants une jaunisse très nette. Chez deux animaux nous avons dosé au 3^e jour, 0 gr. 240 et 0 gr. 120 d'acides biliaires dans le sérum.

Chez un troisième chien, soumis également à l'obstruction du cholédoque après exclusion de la vésicule, nous avons suivi d'heure en heure le taux de la bilirubinémie et celui de la cholalémie. Nous avons alors assisté à une montée des sels biliaires beaucoup plus importante et plus rapide que celle des pigments, contrairement à ce que l'on observe chez l'homme ; mais n'oublions pas que la bile du chien est très riche en acide cholalique (8 à 10 gr. par litre) à l'état normal et surtout qu'il existe, chez cet animal, une cholalémie physiologique de 0 gr. 030 en moyenne.

III. — Ictères catarrhaux.

Notre expérience repose sur vingt et une observations. Toutes, sans exception, ont révélé à la période d'état une

rétenction sanguine de sels biliaires ; celle-ci est aussi précoce et non moins élevée que la moyenne des cholalémies observées au cours des ictères par obstruction : elle oscille, chez nos sujets entre 0 gr. 080 et 0 gr. 120 ; dans toutes ces observations la cholémie pigmentaire fut comprise entre 0 gr. 800 et 1 gr. 20, elle ne dépassa qu'exceptionnellement 1 gr. 20 (voir tableau II). On peut même dire que la dissociation est moins marquée au début de l'ictère catarrhal qu'au début du cancer cholédocien. Lorsque la cholalémie dépasse 0 gr. 100 le plus souvent la bilirubinémie reste à un taux inférieur à 0 gr. 850 (voir obs. 5, 6, 7, 8, 110, 267, tableau I) alors que pour une cholalémie dépassant 0 gr. 100 le taux de la bilirubine est en général supérieure à 0 gr. 800 et même 1 gramme au cours des ictères (voir obs. 44, 100, 171, 176, 241, 280, 284, tableau II) par obstruction cholédocienne.

A la période d'état de l'ictère catarrhal, pigments et sels présentent une dissociation pigmento-cholalique relative, la relation des sels aux pigments étant dans le rapport de 1 à 5 ou 7 en moyenne.

Il n'en va pas de même au moment de la convalescence. A cette période peuvent apparaître certaines dissociations plus accentuées qui ont été mises en évidence pour la première fois par MM. Lemierre et Brulé. Brulé et Garban ; ces auteurs jugeaient la rétenction sanguine des acides biliaires par l'épreuve des hémocopies et par la réaction de Hay.

Avec une méthode nouvelle nous avons pu observer directement ce qui se passait dans le sang et confirmer, tout en les précisant, les remarques cliniques déjà anciennes de Lemierre, Brulé et Garban. Lorsqu'un ictère catarrhal arrive à la troisième ou quatrième semaine, plusieurs modalités peuvent se produire :

— La débâcle urinaire annonçant la guérison s'amorce, les selles se recolorent, les téguments commencent à se dépouiller de leur teinte jaune et l'on assiste à une baisse presque parallèle des pigments et des sels ; voir par exemple nos observations 110, 169 et 192 (tabl. II).

— d'autres fois, on voit une disparition rapide des sels biliaires alors que les pigments subissent une diminution

beaucoup plus lente, ainsi que le montrent nos observations 4, 8, 246, 265 et 268 (ictères précocement dissociés de Brulé). C'est ainsi qu'un ictère catarrhal peut en trois ou quatre jours passer d'une *dissociation pigmento-cholalique relative* à une *dissociation accentuée ou absolue*, fait que nous n'avons jamais observé au cours d'un ictère par obstruction.

— parfois, alors que les sels biliaires ont disparu et que la bilirubine décroît, on peut assister à une nouvelle ascension, il est vrai légère et passagère, des sels biliaires (obs. 268).

Cette dissociation précoce n'a pas seulement l'intérêt physiopathologique qui a permis à M. Brulé d'apporter un argument de plus à l'origine hépatique de ces ictères. Elle offre aussi un intérêt diagnostique et pratique qui n'avait pas échappé à M. Brulé. Mais nous pouvons aujourd'hui, en étudiant le sang, apporter des précisions que ne lui permettaient ni l'épreuve des hémocoïnies ni la réaction de Hay.

Lorsqu'un malade arrive à la 4^e ou 5^e semaine d'une jaunisse qui reste très foncée, et qu'il commence à maigrir, le médecin, est en droit de penser à un cancer ou à un calcul du chodéloque et de proposer l'intervention ; si à cette période il assiste à une disparition rapide des sels biliaires ou si, voyant le malade pour la première fois, il constate une dissociation pigmento-cholalique accentuée ou absolue, il peut éliminer le diagnostic d'ictère par obstruction et porter celui d'ictère catarrhal ou infectieux. C'est ainsi que nous avons vu M. Me.... (obs. 265, tableau II) au 30^e jour de son ictère : il était très jaune, amaigri, et l'on pouvait redouter un cancer ; d'emblée nous avons été frappé de la faiblesse de la cholalémie, 0 gr. 048 pour une bilirubinémie de 1 gr. 33. Dans un cancer du pancréas, par exemple, pour une bilirubinémie de 1 gr. 33 nous aurions eu une cholalémie avoisinant ou dépassant 0 gr. 100. Cette *dissociation accentuée* nous a permis d'éliminer la possibilité d'une obstruction cholédocienne ; les faits nous ont donné raison, puisque le malade s'est mis à déjaunir vers le 40^e jour. Remarquons encore dans cette observation la brusque disparition des sels puisque le 46^e jour il n'y avait plus d'acide cholalique dans le sérum, malgré une bilirubinémie encore élevée : 0 gr. 444.

Cependant, il faut bien savoir que tout ictère catarrhal même prolongé peut ne pas évoluer vers la dissociation accentuée ou absolue et rester de longues semaines au stade de dissociation relative. Nous venons d'observer dans le service du Professeur Ombredanne un jeune ictérique qui avait encore 0 gr. 200 d'acide cholalique à la neuvième semaine et qui ne fit sa dissociation qu'au soixante-quinzième jour de la maladie sans que le taux des pigments ait subi la moindre variation.

En résumé si les ictères catarrhaux ont tendance à présenter une dissociation accentuée à une date relativement précoce il ne faut pas ériger ce fait en loi absolue : *observer une dissociation accentuée permet d'éliminer un ictère par obstruction* (1); *observer une dissociation relative est un argument en faveur de l'ictère cholédocien, mais cela seulement après la troisième ou quatrième semaine et l'argument prend d'autant plus de poids que l'ictère évolue depuis plus longtemps.*

Mais en dehors de son indication diagnostique la chute précoce de la cholalémie a une valeur évolutive : en effet quand l'ictère catarrhal va guérir elle amorce sa descente bien avant celle de la bilirubinémie.

Notons, toutefois que la diminution précoce des sels biliaires n'est pas nécessairement de bon augure au cours de toutes les affections hépatiques ; dans certaines cirrhoses ictérogènes, dans certains ictères graves, accompagnés de signes d'insuffisance hépatique sévère, les sels biliaires peuvent complètement disparaître du sang malgré une évolution mortelle.

IV. — Au cours des ictères infectieux.

La cholalémie est très particulière au cours des ictères infectieux. Dans les douze observations que nous rapportons, nous avons dix fois noté une cholalémie très faible par rapport aux pigments.

(1) Rappelons ici (voir p. 72) que les ictères par obstruction ne présentent qu'exceptionnellement une dissociation absolue et cela seulement vers le 3^e ou 4^e mois de leur évolution.

Il en fut ainsi chez deux malades atteints de spirochétose ictéro-hémorragique (obs. 178 et 302, tableau III) ; ils présentaient une cholalémie très basse, alors que la bilirubinémie était très élevée. Nous pouvons parler à leur propos de *dissociation pigmento-cholalique très accentuée*. Par contre notre troisième cas de spirochétose (obs. 218, tabl. III) n'a présenté qu'une dissociation pigmento-cholalique relative puisqu'au huitième jour de la jaunisse, nous notons 0 gr. 060 de sels biliaires pour 0 gr. 660 de bilirubine.

Que nous enseigne la réaction de Hay en regard de ces faits ? Garnier et Reilly trouvant la cholalurie constante pensent que les sels biliaires joueraient un rôle non négligeable dans la disparition des parasites. Lemierre et Lesveque ont rapporté un cas où il existait une élimination dissociée au profit de sels et ont conclu à l'existence d'une rétention cholalique plus forte que celle de pigments. Bariéty dans sa thèse relate l'histoire d'un malade où les sels biliaires du sang dépassaient 0 gr. 100 ^o/₁₀₀, limite de sensibilité de la technique qu'il employait. Pour être fréquente, la dissociation pigmento-cholalique accentuée n'est donc pas constante au cours de la spirochétose ictéro-hémorragique. Cependant elle ne paraît pas rare, à en juger seulement par la réaction de Hay. Nous avons dépouillé, au hasard, quinze observations de spirochétose publiées dans la littérature médicale ; sur ces quinze cas il est noté six fois une réaction de Hay négative faisant contraste avec la richesse des urines en bilirubine. Ce sont les observations de Etienne Bernard et Gilbert Dreyfus (1927), de Ch. Aubertin et M. Poumailloux (1929), de P. Abrami et Robert Worms (1930), de Laignel-Lavastine, Y. Bocquien et Y. Sterne (1932), de M. Bariéty et M. Déparis (1933), de Carnot et Jean Weill (1934).

Un sujet atteint d'ictère avec fièvre élevée et streptocoques dans le sang (obs. 170, tableau III) avait une dissociation pigmento-cholalique accentuée pendant les quinze premiers jours de son ictère ; elle est devenue absolue au dix-neuvième jour, veille de sa mort.

Les mêmes observations peuvent être faites pour la malade de l'observation 77, tableau III, qui était atteinte d'un ictère fébrile ayant débuté avec arthralgies, érythèmes et dont l'étiologie n'a pu être découverte (hémoculture négative, séro-diagnostic de Pettit négatif).

Nous rangerons encore dans ce groupe un ictère (obs. 112) apparu après une gastrectomie en même temps qu'une congestion pulmonaire. La dissociation pigmento-cholalique fut ici absolue.

Nous classerons également parmi les ictères infectieux, l'observation d'une jeune malade (obs. 200) qui au cours d'un syndrome infectieux ayant évolué pendant trente jours, sans qu'aucun examen de laboratoire put en révéler l'étiologie, présenta une légère jaunisse ayant duré dix jours : la dissociation fut accentuée.

Enfin, nous citerons pour terminer une observation de jaunisse, ayant débuté par un syndrome fébrile et s'étant estompée en une semaine (obs. 208) ; la dissociation pigmento-cholalique fut absolue.

Nous voyons donc qu'il y a une différence assez nette entre les ictères infectieux, les ictères cholédociens et les ictères catarrhaux ; les ictères cholédociens et catarrhaux traduisent toujours pendant les premières semaines de leur évolution une dissociation pigmento-cholalique relative : les ictères catarrhaux présentent assez précocement une dissociation accentuée ou absolue alors que pratiquement les ictères cholédociens conservent pendant tout le cours de leur évolution la dissociation relative du début. Par contre, la plupart des ictères infectieux se font remarquer par une dissociation pigmento-cholalique très accentuée ou absolue apparaissant d'emblée.

Ainsi, au cours d'un ictère la découverte d'une dissociation pigmento-cholalique relative ou absolue oriente franchement le diagnostic. Tout dernièrement notre ami Lemant nous a montré, dans le service de notre maître M. Laubry,

une malade âgée de 75 ans, atteinte d'un ictère très foncé (obs. 235, tableau III) : au 2^e jour de la jaunisse nous notions une bilirubinémie de 0 gr. 400 et de 1 gr. 14 au 5^e jour ; cette femme étant obèse, il était difficile de savoir si le foie était hypertrophié ; on pensait à un cancer, étant donné son âge. Sur la seule constatation de la dissociation pigmento-cholalique fort accentuée, puisque pour 1 gr. 34 de bilirubine il n'y avait que 0 gr. 012 d'acide cholalique dans le sérum, nous avons éliminé l'hypothèse d'une obstruction cholédocienne. L'évolution nous a donné raison ; la malade guérit de son ictère en l'espace de cinq semaines. Nous n'avons pu trouver la cause de cette jaunisse. L'élévation de l'urée sanguine plaidait en faveur de la spirochétose ictéro-hémorragique, mais l'inoculation de l'urine au cobaye aussi bien que le séro-diagnostic de Pettit ont été négatifs.

CHAPITRE III

LA CHOLALÉMIE DES CIRRHOTIQUES

Voilà déjà longtemps qu'à la faveur de la réaction de Hay on a essayé d'entrevoir la présence des sels biliaires dans les urines. Brulé et Garban, ont fait un large usage de ce procédé d'exploration ; Gilbert, Chabrol et Henri Bénard ont eu recours à la sialagmométrie ; mais aucun de ces auteurs n'a abordé le domaine de la cholémie saline.

Nous diviserons notre étude des cirrhoses en trois parties : 1^o cirrhoses atrophiques du type Laënnec ; 2^o cirrhoses hypertrophiques du type Hanot-Gilbert ; 3^o cirrhoses ictérigènes.

I. — Cirrhoses atrophiques

Notre statistique comprend treize malades. Dans tous les cas il s'agissait de cirrhoses graves avec œdèmes, ascite et très mauvais état général. Douze de nos observations relatent une cholalémie comprise entre 0 gr. 056 et 0 gr. 005. Par contre, trois malades (obs. 68, 221 et 250, tableau IV) ont eu une réaction phospho-vanillique négative, d'eux d'entre eux pendant plusieurs semaines, le troisième quelques jours avant sa mort ; cependant, ces trois cirrhotiques avaient une bilirubinémie nettement augmentée.

A l'opposé, nous avons observé deux malades (obs. 53 et 146, tableau IV) qui, pour une bilirubinémie normale de 0 gr.020 et de 0 gr.024 avaient une cholalémie élevée de 0 gr.030 et 0 gr.048. Ces faits montrent qu'il n'existe aucune proportionnalité entre le taux de l'acide cholalique et celui

de la bilirubine dans le sérum des cirrhoses de Laënnec anictériques : tantôt, et c'est le cas le plus fréquent, il y a plus de pigments que de sels ; tantôt il y a autant de pigments que de sels ; très rarement enfin, il y a plus de sels que de pigments.

La cholangémie n'a aucun rapport avec le type évolutif de la maladie. Chez tel de nos malades (obs. 250), on voit les sels biliaires disparaître du sang dans les semaines précédant la mort alors que chez un autre sujet (obs. 195), la cholangémie disparaît également au moment où une légère amélioration permet la sortie de l'hôpital. Que la cholangémie soit basse comme dans les observations 64 et 22, ou qu'elle soit plus élevée comme dans les observations 55 et 109, il peut s'agir de formes graves.

II. — Cirrhoses hypertrophiques

Nous rangerons dans ce groupe vingt-trois malades (tableau V), porteurs d'un gros foie dur ; les uns avaient une ascite et de légers œdèmes des membres inférieurs ; les autres au contraire ne présentaient apparemment aucune hydrophilie cutanée ou séreuse. Chez ces vingt-trois cirrhotiques la cholangémie était présente sauf dans quatre cas.

Trois de ceux-ci étaient des malades porteurs d'une cirrhose hypertrophique (du type Gilbert-Garnier) parfaitement tolérée. L'un (obs. 60), obèse emphysémateux, porteur d'un gros foie, sans circulation collatérale, sans œdèmes, sans ascite, sans splénomégalie, était entré à l'hôpital pour une bronchite ; la bilirubinémie était d'ailleurs normale. L'autre (obs. 89), éthylique, atteint d'un rétrécissement mitral, avait un foie gros, dur, non douloureux : le chiffre des pigments et des sels biliaires du sang était physiologique. Le troisième (Obs. 122) séjournait à l'hôpital pour une polynévrite éthylique et n'accusait aucun signe d'insuffisance hépatique, malgré une hépatomégalie manifeste ; chez lui également la bilirubinémie était de 0 gr. 018 et la réaction phospho-vanillique négative. Le quatrième enfin

T A B L E A U N° IV
CIRRHOSES ATROPHIQUES TYPE LAENNEC .

DIAGNOSTIC	Date	Sels biliaires	Biliru- bine	Commentai- res
OBS.14 - Hépatite graisseuse		0 gr 015		
OBS.11 - Cirrhose de Laennec avec ménin- gite tuberculeuse .		0 gr 015		
OBS.53 - Hépatite graisseuse		0 gr 030	0 gr 020	
OBS.64 - Cirrhose de Laennec avec très mauvais état général	2-I-33	0 gr 010	0 gr 096	murt le 5 février 1933
OBS.68 - Cirrhose de Laennec avec gros oedème , ascite , petit foie	10-I- 34 19-I- 34 9-2- 34 10-3 -34	0 gr 000 0 gr 000 0 gr 000 0 gr 018 0 gr 040	0 gr 114 0 gr 133 0 gr 166 0 gr 200 0 gr 140	cholest=1,56 ponct.d'ascite le 28-I-34 le 6-3-34 le 29-3-34 Mort le 12-4- 34
OBS.109 - Cirrhose de Laennec	24-2- 34	0 gr 056	0 gr 110	mort le 26-2-34
OBS.123 - Cirrhose de Laennec	9-3- 34	0 gr 016	I 10.000	mort le 12-3-34
OBS.146 - Cirrhose de Laennec BW + dans le sang	10-4- 34	0 gr 040	0 gr 066	
OBS.151 - Cirrhose de Laennec -Mauvais é- tat général	1-6- 34 6-6- 34	0 gr 048 0 gr 018	0 gr 020 0 gr 24	
OBS.195 - Cirrhose a- trophique -ascite - oedème - mauvais é- tat général	27-II- 34 18-12- 34 5- I- 35	0 gr 018 0 gr 042 0 gr 000	0 gr 140 0 gr 071 0 gr 056	chol. 1,20 sort un peu amélioré
OBS.202 - Cirrhose a- trophique ascite - mauvais état général	23-II-34 21-12-34 8- I-35	0 gr 030 0 gr 010	0 gr 030 0 gr 100 0 gr 070	ponction 10 litres
OBS.221 - Cirrhose as- citiqur -mauvais état général	8- I-35 14- 2-35	0 gr 000 0 gr 004	0 gr 062 0 gr 048	
OBS.250 - Cirrhose atro- phique - ascite - oe- dème	16- I-35 2- 2-35	0 gr 004 0 gr 000	0 gr 120 0 gr 125	décédé le 10-2-35

TABLEAU N° V
CIRRHOSES HYPERTROPHIQUES

DIAGNOSTICS	Date	Sels biliaires	Biliru bine	Commentaires
OBS. 61 - Cirrhose hy- pertrophique avec gros se rate, pas d'œdème, pas d'ascite - Etat général parfait	20-11-33 28-12-33 20-2-34 5-3-34 30-3-34 12-5-34 19-9-34 22-1-35	0 gr 040 0 gr 000 0 gr 032 0 gr 032 0 gr 040 0 gr 040 0 gr 040 0 gr 000	0 gr 056 0 gr 014 0 gr 040 0 gr 110 0 gr 048 0 gr 056 0 gr 066 hémolyse	après 1 mois et 1/2 d'hospital foie et rate tjs gros - état général parfait
OBS. 60 - Cirrhose hy- pertrophique avec par- fait état général	28-12-33	0 gr 000	0 gr 018	après 5 semaines d'hospital
OBS. 74 - Cirrhose hy- pertrophique évoluant depuis 8 ans - grosse rate - actuellement poussée d'ascite bon état général	2-1-34 22-1-34 9-2-34	0 gr 034 0 gr 015 0 gr 010	0 gr 100	sort de l'hôpi- tal sans avoir été ponctionné
OBS. 89 - Cirrhose hy- pertrophique avec très bon état géné- ral	6-2-34		I 35,000	
OBS. 96 - Cirrhose hy- pertrophique - ascite œdème des membres inférieurs	9-2-34	0 gr 000	0 gr 015	ponct. d'ascite 7 litres. Galactosurie bon
OBS. 98 - Cirrhose hy- pertrophique avec très bon état général	8-2-34	0 gr 035	I 20,000	
OBS. 122 - Cirrhose hy- pertrophique avec bon état général polynévrite éthyli- que	9-3-34	0 gr 000	0 gr 018	
OBS. 126 - Cirrhose hy- pertrophique avec bon état général	9-3-34	0 gr 000	I 15,000	
OBS. 154 - Cirrhose hy- pertrophique - légère ascite - œdème des membres inférieurs état général médiocre	30-5-34 6-6-34 14-6-34	0 gr 016 0 gr 015 0 gr 018	0 gr 040 0 gr 040 0 gr 040	

Tableau n° V (suite)

DIAGNOSTIC	date	sels biliaires	biliru- bine	commentaires
OBS. 157 - Cirrhose hy- pertrophique - légère ascite - bon état géné- ral - bonne diurèse	I - 6-34	0 gr 072	0 gr 080	ascite se ré- sout sponta- nément .
OBS. 158 - Cirrhose hy- pertrophique avec grosse rate - ascite légère - oedème des membres inférieurs	9- 5-34 15- 5-34 1- 6-34	0 gr 048	0 gr 160 0 gr 125 0 gr 080	
OBS. 159 - Cirrhose hy- pertrophique - peti- te ascite - état gé- néral médiocre	30- 5-34	0 gr 056	0 gr 040	
OBS. 167 - Cirrhose hy- pertrophique avec bon état général		0 gr 036	0 gr 036	
OBS. 115 - Cirrhose hy- pertrophique avec lé- gère ascite	2- 3-34	0 gr 024	I 15,000	
OBS. 180 - Cirrhose hy- pertrophique avec légère ascite	20-10-34 27-10-34 25-11-34 3- 2-35	0 gr 043 0 gr 024 0 gr 012 0 gr 010	0 gr 250 0 gr 088 0 gr 065	
OBS. 186 - Cirrhose hy- pertrophique - état général parfait	23-10-34 7-12-34	0 gr 028 0 gr 038	0 gr 200 0 gr 104	
OBS. 187 - Cirrhose hy- pertrophique - parfait état général	24-10-34	0 gr 036	0 gr 250	
OBS. 194 - Cirrhose hy- pertrophique avec splénomégalie - hémor- ragies diverses	27-11-34	0 gr 024	0 gr 080	
OBS. 198 - Cirrhose hy- pertrophique - ascite non ponctionnée - un peu d'oedème des mem- bres inférieurs - as- sez bon état général	7-12-34 8-12-34 8- 1-35	0 gr 020 0 gr 030 0 gr 005	0 gr 080 0 gr 100 0 gr 066	

Tableau N° V (suite 2)

DIAGNOSTIC	date	sels biliaires	bilirubi- né	commentaires
OBS. 204 - Cirrhose hypertrophique sans ascite et sans oedème	14-12-34	0 gr 024	0 gr 056	
OBS. 205 - hépatomé- galie - salpingite gauche - éruption purpurique	14-12-34 12-1-35	0 gr 042 0 gr 000	0 gr 071	
OBS. 206 - Cirrhose ascitique hypertro- phique avec très mau- vais état général	29-12-34	0 gr 060	0 gr 128	
OBS. 256 - Cirrhose hypertrophique avec tuberculose pul- monaire - Coma	1-2-35	0 gr 010	0 gr 048	

(Obs. 126) avait un tableau clinique semblable au précédent ; comme chez lui nous ne pûmes dans son sérum déceler de sels biliaires ; par contre, la bilirubinémie était légèrement augmentée.

Chez les dix-neuf autres cirrhotiques, nous avons toujours noté une cholestémie anormalement élevée ; les chiffres sont tout à fait comparables à ceux des cirrhoses atrophiques puisqu'ils se sont étagés dans quatorze cas entre 0 gr. 005 et 0 gr. 056 et que dans deux cas seulement ils ont oscillé autour de 0 gr. 070.

Au point de vue du pronostic, la cholestémie n'a pas plus d'importance dans ce type de cirrhose que dans le précédent. Nous suivons depuis dix-huit mois un sujet (Obs. 61, tableau V) chez lequel les glandes hépatique et splénique sont étrangement hypertrophiées ; l'état général est parfait ; cet homme peut faire son métier de garçon de bureau et cependant la cholestémie saline oscille toujours aux alentours de 0 gr. 040. Par contre, les cirrhotiques des observations 158 et 159 (Tableau V) avaient également un chiffre voisin de 0 gr. 040 de sels biliaires sanguins avec une évolution grave de leur affection hépatique.

Cependant, trouver au cours d'une cirrhose hypertrophique une absence de sels biliaires correspondant à une

bilirubinémie normale nous paraît en faveur d'une heureuse évolution. C'est ainsi que notre malade de l'observation 61 a présenté au sortir de l'hôpital une chute de ses pigments et de ses sels sanguins après une cure de repos, de lait et d'extrait hépatique.

Enfin nous répéterons ici ce que nous avons dit au paragraphe précédent à propos des rapports des pigments et des sels biliaires : il n'existe aucune proportionnalité dans leur rétention. Nous voyons dans le tableau V un malade (Obs. 157) qui a un taux égal de pigments et de sels ; chez le malade de l'observation 180, il y a cinq fois plus de pigments que de sels et chez le cirrhotique de l'observation 186, il y a huit fois plus de pigments que de sels. Cependant ces trois malades étaient atteints d'une cirrhose ayant la même évolution clinique.

Remarquons qu'au cours des cirrhoses, qu'elles soient atrophiques ou hypertrophiques, la rétention des sels biliaires est plus élevée, *par rapport aux pigments*, qu'au cours des ictères. L'urine donne d'ailleurs le reflet indirect de ces constatations en montrant une tension superficielle abaissée alors qu'il n'y a que de l'urobilinurie (Brulé).

III. — Cirrhoses ictériques

Nous réunissons sous le titre de cirrhose ictérique dix malades qui étaient franchement jaunes et, nous le soulignons, qui ne présentaient pas seulement la teinte légèrement subictérique qui est si fréquente au cours de toute affection hépatique ; chez tous la bilirubinémie dépassait 0 gr. 300 $\frac{0}{100}$.

L'analyse du complexe pigmento-cholalique de ces dix sujets impose d'emblée une distinction : le sérum de six d'entre eux (Obs. 79, 94, 134, 185, 91, 103 p. 87 et 88) contenait des sels biliaires alors que celui des quatre autres (Obs. 27, 47, 236, 260 p. 89) en était à peu près complètement dépourvu ; fait remarquable, ce sont les jaunisses les plus intenses qui présentaient le moins de sels biliaires.

Voici les observations des cirrhotiques du premier groupe :

OBS. 79. — Po..., Paule, 42 ans.

Il s'agissait d'une femme de 46 ans présentant une cirrhose de Laënnec typique avec ascite, petit foie (vérifié après ponction), œdèmes des membre inférieurs et très mauvais état général. Le début des accidents remontait à deux mois. *La bilirubinémie était de 0 gr. 285, la cholestémie de 0 gr. 060, l'azotémie de 0 gr. 20 et la cholestérolémie de 1 gr. 23.*

OBS. 94. — Dro..., Célestine, 49 ans.

Cirrhose de Laënnec banale avec jaunisse existant depuis quatre mois, date du début de la maladie. Le 9 février 1934, nous notons *une bilirubinémie de 1 pour 20.000 avec une cholestémie de 0 gr. 025* ; bien que la jaunisse s'accroisse, quinze jours plus tard nous ne notons que *0 gr. 016 de sels biliaires pour une cholémie pigmentaire de 1 pour 10.000*. La malade quitte l'hôpital le 10 mai.

OBS. 134. — Ber..., Augustine, 43 ans.

Cirrhose de Laënnec banale avec œdèmes et très mauvais état général.

Le 23-3-34 :

Bilirubinémie.....	0 gr. 570
Cholestémie.....	0 gr. 028

Le 28-3-34 :

Bilirubinémie.....	0 gr. 400
Cholestémie.....	0 gr. 015

Le 10-4-34 :

Bilirubinémie.....	0 gr. 660
Cholestémie.....	0 gr. 040

OBS. 185. — Ven..., Lucie, 42 ans.

Cirrhose atrophique ascitique et œdémateuse évoluant depuis quatre mois et s'étant accompagnée dès le début d'ictère.

Bilirubinémie.....	0 gr. 333
Cholestémie.....	0 gr. 024

Cliniquement, ces quatre malades ne présentaient aucun signe, en dehors de leur jaunisse, qui permît de les distinguer d'une cirrhose de Laënnec banale. Cela ne nous étonne d'ailleurs point ; les auteurs classiques Dieulafoy et son élève Guiter, N. Fiessinger, Norero, Sonnié-Moret dans sa

thèse, nous ont appris que la jaunisse accompagnant une cirrhose ascitique se comportait comme un épiphénomène qui tantôt reste étranger à l'évolution de la maladie, tantôt constitue un épisode terminal. L'anatomie pathologique n'apporte pas une signature bien définie ; Chabrol écrit dans son livre sur les ictères : « le foie peut être atrophié ou hypertrophié ; sa surface est habituellement granuleuse. Histologiquement, la sclérose est aussi bien extra qu'intralobulaire. »

Tandis que dans les observations précédentes, l'ictère se présentait comme un épiphénomène, nous voyons, dans les deux observations qui suivent, la jaunisse faire partie intégrante de la maladie. Dans l'observation 91, le malade était jaune depuis quinze ans et dans l'observation 103 depuis huit mois.

OBS. 91. — Car..., Zéphyrin. Agé de 55 ans.

Présentait un gros foie (16 centimètres sur la ligne mamelonnaire), une très grosse rate (18 centimètres) et un ictère des plus nets. Il n'y avait ni ascite, ni œdème. L'auscultation du cœur révélait un double souffle de la base. La réaction de Bordet-Wassermann était positive dans le sang. Car..., avait un assez bon état général, continuant son métier de garde-magasin. Cependant, il nous disait avoir une maladie de foie depuis quinze ans et accusait depuis cette date une jaunisse évoluant par poussées. *La bilirubinémie était de 1/15.000, la cholestémie de 0 gr. 060.*

OBS. 103. — Lar..., Célestin, 49 ans.

Cirrhose bronzée avec ictère datant de huit mois ; gros foie grosse rate ; glycosurie intermittente. *Cholestémie 0 gr. 048 ; bilirubinémie de 1 pour 15.000.*

Dans ces deux observations, il y a une cholestémie saline en rapport avec la cholestémie pigmentaire.

*
* *

En regard des observations précédentes qui s'accompagnaient toutes d'une cholestémie appréciable nous devons situer quatre malades atteints de cirrhose ictérique offrant

un même lien : la dissociation pigmento-cholalique très accentuée ou absolue.

OBS. 27. — Re..., Paul, 59 ans.

Cet homme était amené dans le coma, un après-midi de novembre 1932 dans le service de M. Et. Chabrol. D'emblée, on était frappé par l'intensité de son ictère et l'examen révélait en même temps qu'une légère ascite une accentuation de la circulation collatérale et une glande hépatique très hypertrophiée. Il mourait quelques heures après son arrivée. Cependant, nous avons eu le temps de faire une prise de sang ; malgré une *bilirubinémie à 0 gr. 850*, les sels biliaires étaient totalement absents du sérum. L'autopsie n'a pas pu être faite.

OBS. 47. — Ga..., Gilbert, Boulanger, 51 ans.

Le 8 novembre 1933, M. Ga..., entré dans le service de M. M. Brulé. Dès l'abord, on était frappé par l'intensité de la jaunisse dont les premiers symptômes étaient apparus dix mois plus tôt, en janvier. Mais si de janvier à juin la jaunisse était restée très légère, le malade avait un ictère franc depuis juin, c'est-à-dire depuis six mois. Les urines abondantes avaient l'aspect typique des urines ictériques ; par contre, les matières étaient colorées et devaient le rester durant toute l'évolution de la maladie. L'état général n'était pas mauvais et notre malade accusait seulement un léger amaigrissement et une certaine fatigue. Dans ses antécédents, il n'y avait rien de saillant, si ce n'est l'aveu d'un éthyisme de longue date.

A l'examen, le ventre apparaissait augmenté de volume, sans ascite. On palpa facilement un foie dur et très gros (20 centimètres sur la ligne mamelonnaire) et une rate également très hypertrophiée (15 centimètres). Les autres appareils semblaient indemnes. Notons que l'épreuve de diurèse provoquée, plusieurs fois pratiquée, s'est montrée quasi-normale ; l'épreuve de galactosurie, suivant la technique de Fiessinger et Thiebault, était également presque normale. Le dosage de l'urée sanguine, plusieurs fois répété, donnait les chiffres de 0 gr. 20 à 0 gr. 28. L'étude de la fragilité globulaire pratiquée suivant la technique de Widal, Abrami et Brulé, n'extériorisait aucune hémolyse vis-à-vis des solutions salines.

Nous avons suivi le malade de novembre 1933 à juin 1934. Rien ne s'était modifié dans son aspect clinique, et cependant les chiffres de cholémie, consignés ci-dessous, montrent que la jaunisse s'était plutôt accentuée, sans d'ailleurs qu'apparût dans le sérum d'acides

biliaires. Cet homme nous a été ramené en août 1934 dans un état presque comateux : la jaunisse restait intense, le foie et la rate étaient toujours gros, un peu d'ascite et des œdèmes des membres inférieurs étaient apparus. Il mourait dans le coma hépatique le 10 août 1934. L'autopsie n'a pu être faite.

	Cholalémie	Bilirubinémie
Le 8-11-34	0	0 gr. 666
Le 18-1-34	0	1 p. 8.000
Le 1-2-34	0 gr. 028	1 p. 10.000
Le 24-3-34	0	1 p. 5.000
Le 15-8-34	0	1 p. 5.000

OBS. 236. — La..., Joséphine. Soudeuse, 33 ans.

Entre le 22 janvier 1935 dans le service de M. Laubry pour ic-tère. Depuis un an, elle accuse les troubles digestifs et nerveux banaux au cours de l'éthylisme, qu'elle avoue d'ailleurs. Elle est jaune depuis dix jours ; à ce moment également son ventre aurait commencé à augmenter de volume. A l'examen, il apparaît très distendu, sillonné d'une circulation collatérale évidente ; il y a de l'ascite, des œdèmes. Le foie ne peut être perçu. Mais surtout on est frappé par une jaunisse des plus accentuées ; les urines sont rares et foncées ; les matières restent colorées.

Quinze jours après son entrée à l'hôpital, la malade mourait sans que rien n'ait changé dans son tableau clinique, si ce n'est l'apparition, trois jours avant la mort, d'un syndrome hémorragique.

Les chiffres rapportés ci-dessous montrent la dissociation absolue existant entre la bilirubinuémie et la cholalémie. Mais aussi, fait intéressant sur lequel M. Et. Chabrol a souvent attiré notre attention, on voit diminuer le taux de la bilirubinémie au fur et à mesure de l'aggravation de la jaunisse.

	Cholalémie	Bilirubinémie
Le 22-1-35	0	1 gr. 33
Le 25-1-35	0	1 gr. 14
Le 29-1-35	0 gr. 008	1 gr.
Le 6-2-35	0	0 gr. 84 Mort

Le dosage de l'urée sanguine pratiqué à deux reprises a donné les chiffres normaux de 0 gr. 29 et 0 gr. 24. Le Bordet-Wassermann était positif. L'épreuve de diurèse provoquée (22 janvier) de Vaquez et Jule Cottet, montrait un rythme d'élimination de l'eau et de

densimétrie comme on en rencontre dans les insuffisances hépatiques graves. L'épreuve de galactosurie (25 janvier) nous a donné les chiffres suivants :

1 ^{er} échantillon : 100 cc.....	6 gr. 50 ‰	0 gr. 65
2 ^e échantillon : 50 cc.....	21 gr. 9 ‰	1 gr. 09
3 ^e échantillon : 70 cc.....	0	0
4 ^e échantillon : 60 cc.....	0	0

Le 6 février : cholestérol : 1 gr. 50 ‰. Hémolyse : début à H 44. Sérine : 20 ‰. Globuline : 44,2 ‰.

Autopsie : Ascite abondante (12 litres). Poumon, cœur, reins normaux. Foie (1580 grammes), granuleux, cloûté, se coupant facilement. Rate (350 grammes).

Bile vésiculaire : Extrait sec : 97 ‰. Sels biliaires : 9 grammes ‰. Bilirubine : 2 grammes.

Examen histologique (pratiqué et interprété par M. André Dreyfuss).

Foie : Examinées à un faible grossissement, les coupes montrent des nodules de parenchyme hépatique noyés au sein d'une masse de sclérose annulaire extrêmement dense.

A un fort grossissement, on observe les lésions suivantes :

Nodules parenchymateux : Le tissu hépatique subsistant est constitué par des nodules de grosseurs assez diverses, mais généralement faible. Les cellules qui composent ces nodules ne sont pas intactes : la majeure partie est constituée par des cellules ayant subi la dégénérescence graisseuse ; dans ces cellules, le noyau est souvent mal distinct, ou bien constitué par un mince croissant excentrique. Les autres cellules ne sont pas intactes ; elles sont élargies et obstruent plus ou moins la lumière des sinusoides. Nombre de cellules sont encombrées de pigments ocres. Les sinusoides sont étroits et irréguliers ; les cellules de Kupffer sont boursofflées et encombrées de pigments.

Sclérose annulaire : Une sclérose extrêmement dense étouffe le tissu hépatique. Sclérose active, riche en cellules, surtout fibroblastes, mais avec de nombreux histiocytes et aussi de très nombreuses cellules lymphoïdes.

Au sein de cette sclérose, on reconnaît de nombreux néo-capillaires mais surtout d'innombrables néo-canalicules biliaires ; les coupes transversales de ces canaux fourmillent littéralement en tous les points de la préparation. Les éléments majeurs du lobule : artère hépatique et veine porte d'une part, veine sus-hépatique d'autre

part, sont noyés pêle-mêle dans la sclérose qui semble ainsi avoir bouleversé totalement l'architecture du lobule.

En résumé, cirrhose annulaire avec dégénérescence grasseuse et pigmentaire du parenchyme et sclérose dense asymétrique avec très intense prolifération des néo-canalicules biliaires.

Rate : Les préparations de rate font saisir les troubles suivants :

Pulpe blanche : Les artères sont extrêmement scléreuses, leur paroi est très épaissie, leur lumière tout à fait amenuisée. La sclérose à point de départ artériel s'étend à travers les corpuscules de Malpighi qu'elle divise radiairement. La composition cellulaire des corpuscules est troublée : uniquement des lymphocytes adultes ; point de lymphoblastes, par contre présence de nombreux macrophages presque en continuité avec l'artère.

Pulpe rouge et sinus : La pulpe rouge est le siège d'une intense réaction macrophagique ; on aperçoit d'innombrables débris cellulaires plus ou moins fragmentés et résorbés par des macrophages à noyaux clairs bien visibles, mais à limite cellulaire imprécise. On ne voit guère d'autres espèces cellulaires.

Les cellules endothéliales des sinus sont souvent volumineuses et surchargées de pigments, nombre d'entre elles semblent ainsi être tombées dans la lumière des sinus. Ceux-ci sont étroits, comprimés par l'hypertrophie de la pulpe rouge ; on y voit outre des hématies, de nombreux macrophages bourrés de pigments et de débris cellulaires.

En résumé ; sclérose artérielle et réticulaire, hypertrophie et réaction macrophagique intense de la pulpe rouge et de l'endothélium sinusien.

Pancréas : Les préparations de pancréas ne montrent qu'un degré marqué de sclérose interstitielle.

Obs. 260. — Cro..., Emilie, 42 ans.

Entre le 15 février 1935 dans le service de M. Et. Chabrol pour maladie de foie² ; d'emblée on est frappé par un ictère très accentué. La malade nous apprend que deux ans auparavant, alors qu'elle avait été jusque là parfaitement bien portante, elle fut prise, brusquement, un après-midi, d'une crise douloureuse, très violente, siégeant dans l'hypocondre droit, s'accompagnant de vomissements et d'une élévation de température à 40° ; en même temps, la malade est devenue jaune et depuis, c'est-à-dire depuis deux ans, cette jaunisse n'a pas rétrocedé ; les urines ont toujours été colorées et les matières tantôt mastic tantôt d'aspect normal ; toutes les trois à quatre semaines, la malade aurait eu des crises doulou-

reuses, semblables à celle qui a commencé sa maladie. A l'examen, en dehors de la jaunisse, on ne trouve qu'un foie dur, débordant de deux travers de doigt le rebord costal ; la vésicule semble grosse. Le reste de l'examen ne révèle rien d'anormal. La cholémie pigmentaire est de 0 gr. 400 et la réaction phospho-vainillique négative ; l'azotémie est de 0 gr. 35 ‰, la cholestérolémie de 1 gr. 60 ‰, la résistance globulaire donne $H_1 = 46$ — $H_2 = 42$ — $H_3 = 82$. Pensant à un calcul du cholédoque, on se décide à intervenir.

Compte rendu opératoire de M. André Bergeret : Anesthésie au protoxyde d'azote. Incision au bord droit du côté droit partant du rebord costal. La vésicule biliaire, volumineuse, distendue, est extériorisée. La ponction montre qu'elle contient un liquide mucoïde, blanc. La vésicule est largement ouverte et l'exploration montre qu'elle ne contient pas de calculs. Le cystique paraît perméable. Un débridement vers la ligne médiane permet d'explorer la voie principale ; elle n'est pas très dilatée. La tête du pancréas n'est ni dure, ni augmentée de volume. On ne sent pas de masse ganglionnaire ou autre au niveau du hile du foie. La paroi est refermée à la soie par une sonde de Pezzer. Dans les 24 heures qui ont suivi l'intervention, il y a eu un écoulement de 1500 grammes de bile puis cet écoulement s'est établi à 500 grammes par 24 heures.

Suites opératoires : Malgré le drainage la bilirubinémie passe de 0 gr. 400 ‰ à 0 gr. 711 ‰ quatre jours après l'intervention, à 0 gr. 800 ‰ huit jours après ; les sels biliaires sont toujours absents du sérum. La malade meurt 15 jours après l'intervention.

Autopsie : Le cholédoque offre le volume d'un crayon et contient du mucus. On note des concrétions pigmentaires dans le canal cystique.

Examen historique : Désorganisation du lobule hépatique par la sclérose. Néo-canalicule biliaire. Dégénérescence graisseuse du parenchyme.

Ces quatre cas étaient cliniquement assez différents : l'un (Obs. 27), reproduisait le tableau d'une cirrhose hypertrophique avec ascite, le second (Obs. 47) celui d'une cirrhose hypertrophique simple, le troisième (Obs. 236) rappelle le syndrome ictéro-ascitique de Fiessinger et Brodin, le quatrième (Obs. 260) évoquait une obstruction calculeuse du cholédoque ; cependant ces quatre malades étaient unis cliniquement par un symptôme commun, l'ictère, et, biologi-

quement, par une dissociation pigmento-cholalique très accentuée ou absolue. Nous n'en rechercherons pas la cause. Y avait-il absence de sels biliaires parce que la glande hépatique laissait filtrer les sels comme à l'ordinaire selon la conception de M. Brulé ou parce que le foie cessait de les produire, selon la conception de M. Chabrol ? Ira-t-on invoquer un facteur tissulaire pensant que les sels biliaires se cachent dans certains organes ; cela est bien peu probable. La jaunisse est-elle due à un facteur hémolytique expliquant l'absence de rétention cholalique ?

Ce sont autant d'hypothèses auxquelles nous nous gardons de donner une réponse, ignorant tout des nombreuses inconnues pouvant être à l'origine de cette dissociation. Un fait clinique est dominant : parmi les cirrhoses que nous avons observées, toutes celles qui s'accompagnaient d'un ictère chronique et très intense avaient un chiffre faible ou nul de sels biliaires.

CHAPITRE IV

LA CHOLALÉMIE EN DEHORS DES ICTÈRES ET DES CIRRHOSSES

Nous réunissons dans ce chapitre les résultats d'un certain nombre de dosages de pigments et de sels biliaires qui ont été effectués chez des malades n'appartenant pas au groupe des hépatiques. Dans un premier paragraphe, nous réunissons ceux dont le sérum était dépourvu de sels biliaires ; dans le second, au contraire, nous envisagerons tous les cas où la réaction phospho-vanillique était positive ; enfin, le troisième sera consacré aux cardiaques.

Voici la liste des malades chez lesquels la réaction phospho-vanillique a été négative :

Diagnostic (35 cas)	Cholalémie	Bilirubinémie
Obs. 12 — Convalescence de typhoïde.....	0	0,028
» 13 — Tuberculose fibreuse	0	0,018
» 14 — Péritonite tuberculeuse.....	0	0,020
» 15 — Convalescence de congestion pulmonaire.....	0	0,024
» 16 — Bronchite	0	0,016
» 17 — Epilepsie essentielle.....	0	0,016
» 18 — Hémiplégie datant de quinze mois	0	0,028
» 19 — Séquelles douloureuses de cholécystectomie datant de deux ans	0	0,030
Obs. 20 — Néphrite albuminurique	0	
» 21 — Azotémie chronique de 2 gr. 05	0	0,012
» 22 — » » » 2 gr. 55	0	
» 23 — » » » 2 gr. 90	0	
» 24 — » » » 3 gr. 05	0	
» 25 — Albuminurie après angine.....	0	0,020
» 26 — Gale	0	0,018
» 27 — Prurit sine materia	0	0,022
» 28 — Prurit anal.....	0	0,016

Diagnostic 35 cas	Cholalémie	Bilirubinémie
Obs. 179 — Sujet normal.....	0	0,016
» 177 — Artérite sénile des membres inférieurs.....	0	0,024
» 263 — Cholécystite subaiguë.....	0	0,040
» 261 — Intoxication barbiturique.....	0	0,040
» 257 — Ptose gastrique. Plexalgie.....	0	0,050
» 256 — Constipation opiniâtre.....	0	0,100
Obs. 251 — Congestion pulm. Temp. à 40° Guérison quatre jours plus tard.....	0	0,020
Obs. 248. — Néphrite mercurielle. Azotémie à 5 gr.....	0	0,020
Obs. 244 — Fièvre typhoïde bénigne.....	0	0,022
» 243 — Congestion pulmonaire chez un éthylique. Mort deux jours plus tard.....	0	0,020
Obs. 239 — Colique de plomb.....	0	0,033
» 230 — Sujet normal.....	0	0,016
» 224 — Entéro-colite. Stase caecale.....	0	0,042
» 223 — Pleurésie.....	0	0,016
» 222 — Neurotonie cardiaque.....	0	0,033
» 219 — Tabès. Léger éthylysme.....	0	0,033
» 218 — Maladie d'Addison.....	0	0,057
» 216 — Rhumatisme infectieux.....	0	0,020

Ces trente-cinq sujets appartiennent aux catégories les plus variées de la pathologie : or aucun d'eux n'a eu de réaction phospho-vanillique positive. Cette constatation présente un double intérêt. Elle montre tout d'abord que la rétention sanguine de sels biliaires ne se rencontre que lorsqu'il y a une lésion avérée du foie ou des voies biliaires. Ensuite nous en tirerons un argument de plus pour assurer la spécificité de la réaction phospho-vanillique lorsqu'elle est pratiquée dans les conditions strictes que nous avons précisées.

Voici maintenant un autre groupe de malades chez lesquels la réaction phospho-vanillique a été positive :

Diagnostic	Cholalémie	Bilirubinémie
Obs. 28 — Grossesse au 9 ^e mois.....	0,036	0,025
» 29 — Grossesse au 9 ^e mois.....	0,025	1 p. 10.000
» 93 — Grossesse au 8 ^e mois.....	0,030	1 p. 35.000
» 99 — Pneumonie au 8 ^e jour.....	0,036	0,055
Après guérison.....	0	0,022
» 108 Pleurésie.....	0,012	0,028
» 114 — Fièvre typhoïde au 2 ^e sept....	0,045	0,060

Diagnostic	Cholalémie	Bilirubinémie
Obs. 118 — Fièvre typhoïde au 2 ^e sept....	0,044	0,033
» 119 — Fièvre typhoïde (rechute).....	0,024	0,050
» 124 — Fièvre typhoïde grave (mort au 10 ^e jour).....	0,028	0,056
» 131 — Goutte et éthylysme.....	0,016	0,060
» 135 — Ulcère duodénal adhérent à la vésicule.....	0,038	0,033
» 140 — Cholécystite lithiasique.....	0,042	0,080
» 143 — Cholécystite lithiasique.....	0,024	0,050
» 148 — Entérocólite muco-membra-neuse.....	0,016	0,057
Obs. 163 — Entérocólite muco - membra-neuse.....	0,028	0,033
Obs. 166 — Entérocólite muco - membra-neuse.....	0,024	0,066
Obs. 175 — Entérocólite muco - membra-neuse.....	0,022	0,066

Si nous analysons ces observations, nous ne sommes point surpris d'y découvrir une cholalémie élevée ; tous ces malades avaient d'ailleurs un taux anormal de bilirubine sanguine.

Au cours de la grossesse (Obs. 28, 29, 93, p. 96) il n'est pas rare de noter des signes dits d'insuffisance hépatique. M. M. Brulé a attiré le premier l'attention sur la fréquence avec laquelle on trouvait une réaction de Hay positive chez les femmes enceintes et cela d'autant plus souvent que la gravidité était plus avancée. Gilbert et Herscher, H. Walter et de Willencourt notent une hyperbilirubinémie chez 92 % des femmes enceintes.

De même, il n'est pas surprenant de trouver une cholémie saline anormalement élevée au cours d'une pneumonie (Obs. 99, p. 96) ; M. Brulé a depuis longtemps insisté sur l'abaissement de la tension superficielle dans les urines des pneumoniques, surtout lorsqu'il s'agissait d'alcooliques ; bien qu'étudiant le sang alors qu'il s'occupait exclusivement des urines, nous avons, comme lui, assisté à un retour à la normale au moment de la convalescence. Les complications hépatiques des affections à pneumocoques sont d'ailleurs bien classiques.

Quatre typhiques (Obs. 114, 118, 119, 124, p. 97) gravement atteints, avaient une augmentation de la bilirubine et de l'acide cholalique sanguins ; chez une cinquième ma-

lade (Obs. 244, p. 96), très légèrement touchée par le bacille d'Eberth, la réaction phospho-vanillique était négative sur le sérum sanguin. M. Brulé, s'appuyant sur une statistique de 23 cas, signale également la chute de la fleur de soufre dans les urines. Quand on se rappelle l'affinité du bacille d'Eberth pour le foie et les voies biliaires et la fréquence avec laquelle la fièvre typhoïde laisse des séquelles hépatobiliaires, on n'est pas étonné de constater qu'au cours de toute typhoïde il existe une cholémie pigmentaire et saline latente.

Il ne nous paraît pas surprenant que des malades atteints de cholécystites lithiasiques, d'entérocolite muco-membraneuse aient un sérum contenant des pigments et des sels biliaires plus qu'à l'état normal. Les relations de la lithiase vésiculaire et de l'insuffisance hépatique, les rapports des troubles intestinaux et du foie sont trop connus pour que nous nous étonnions de trouver dans l'augmentation de la cholalémie un signe de plus de l'altération du fonctionnement hépatique.

* Les travaux de Hanot, de Brulé et Garban, G. Durand et Binet, Harvier et Caroli, Chabrol, Fiessinger, Albot et Thiebault, Chabrol et A. Busson ont bien mis au point ces influences réciproques.

Il est un certain nombre de malades (Obs. 19, 224, 256, 257, 263, p. 96) atteints de troubles digestifs chez lesquels nous avons découvert une bilirubinémie anormalement élevée avec une cholalémie normale. En concluerons-nous que cette dissociation prouve que le foie de ces derniers sujets est moins atteint que celui de ceux qui, pour des troubles digestifs semblables (Obs. 148, 163, 166, 175, p. 97) ont une cholalémie élevée ? Nous n'avons pas étudié ce groupe de malades avec une attention suffisante pour nous permettre une conclusion rigoureuse. Cependant, rapprochant ces faits de ceux que nous avons observés au cours des ictères ou des cirrhoses, nous ne pensons pas qu'une cholalémie élevée soit l'indice d'une altération particulièrement marquée de la glande hépatique.

Si, personnellement, nous avons tenu à éprouver notre réaction chez un grand nombre de malades, aussi différents

que possible les uns des autres, nous ne croyons pas qu'il y ait un intérêt pratique, en dehors des ictères à en étendre l'usage. L'étude de la bilirubinémie est plus facile, plus rapide et elle donne, croyons-nous, le reflet de l'atteinte du parenchyme hépatique plus précocement que ne le fait la cholestémie.

Au cours de l'insuffisance cardiaque, le subictère est de règle ; les travaux de Gilbert, A. Bernheim, Nov, Diamond, Milroy, Wautier, H. v. d. Bergh mentionnent tous la fréquence de l'hyperbilirubinémie ; M. M. Brulé et Garban ont les premiers insisté sur l'abaissement de la tension superficielle des urines au cours des cardiopathies. Dans le service de notre maître M. Ch. Laubry, nous avons pu, en collaboration avec M. Molingen (de Charleroi), examiner un grand nombre de malades. Il ressort de nos examens que la cholestémie est plus rare que la bilirubinémie qui semble de règle au cours de toute insuffisance cardiaque ; son apparition est indépendante du taux de la bilirubinémie ; chez le même sujet, elle apparaît ou disparaît suivant les examens, sans que le taux de la bilirubine ait augmenté ou diminué ; en général, les sels biliaires ont tendance à survenir en même temps que l'état s'aggrave et à disparaître en même temps que l'état s'améliore ; la cholestémie nous a paru peut-être plus fréquente chez les hypertendus avec insuffisance ventriculaire gauche que chez les mitraux avec une arythmie complète.

Voici quelques observations :

Obs. 286. — Ca... 60 ans. T. A. 12-10. Galop proto-diastolique.
Le 26-1-35 :

Bilirubinémie.....	0 gr. 114
Cholestémie	0

Le 19-2-35 : Sous l'influence du repos et des toni-cardiaques.

Bilirubinémie.....	0 gr. 075
Cholestémie	0

OBS. 287. — Ca..., 62 ans. Insuffisance aortique. Arythmie complète.

	Bilirubinémie	Cholalémie
Le 8-2-35	0 gr. 050	0 gr. 020
Le 26-2-35	0 gr. 050	0
Le 17-3-35	0 gr. 067	0 gr. 036

OBS. 288. — Ge..., 45 ans. Insuffisance aortique syphilitique. Galop. T. A., 18-12.

	Bilirubinémie	Cholalémie
Le 17-1-35	0 gr. 071	0
Le 28-1-35 (après traitement)	0 gr. 050	0 gr. 016
Le 12-2-35	0 gr. 050	0
Le 23-2-35	0 gr. 057	0

Le malade sort de l'hôpital. Un mois plus tard, il y entre à nouveau en pleine asystolie :

Le 27-3-35	0 gr. 100	0 gr. 036
------------------	-----------	-----------

OBS. 289. — Rythme de galop. Œdèmes. T. A. 23-17.
Le 24-1-35 :

Bilirubinémie	0 gr. 075
Cholalémie	0 gr. 022

Le malade est mis au repos, traité par la cardibaine et la théobromine :

Le 9-2-35 :

Bilirubinémie	0 gr. 021
Cholalémie	0

On voit par ces quelques exemples (notre ami Molingen en rapportera un grand nombre dans un prochain travail) que la bilirubinémie, beaucoup mieux que la cholalémie, suit dans ses fluctuations l'aggravation ou au contraire l'amélioration de l'insuffisance cardiaque.

Nous voudrions rapporter à la fin de ce chapitre l'observation d'un homme atteint d'insuffisance aortique d'origine rhumatismale avec arythmie complète. Au terme de son existence, alors que le tableau de l'asystolie avec dyspnée

et œdèmes était des plus typiques, nous avons vu survenir un ictère qui a entraîné la mort en quatorze jours ; voici les chiffres respectifs de bilirubine et d'acide cholalique, montrant qu'il s'agissait d'une dissociation pigmento-cholalique très accentuée :

	Bilirubinémie	Cholalémie
13-3-35	0 gr. 088	0
18-3-35	0 gr. 185	0 gr. 020
23-3-35	0 gr. 670	0 gr. 045
27-3-35	1 gr. 600	0 gr. 012
Mort le 28-3-35.		

L'autopsie nous a permis de constater qu'il n'y avait aucune obstruction le long des voies biliaires, et macroscopiquement, le foie avait un aspect de cirrhose avec dégénérescence grasseuse.

IV^e PARTIE

RÉPARTITION DE L'ACIDE CHOLALIQUE DANS LES TISSUS

Répartition dans les tissus.

En 1920 Chabrol et Benard ont fait remarquer la faible teneur du sérum en acide cholalique, même dans les ictères les plus foncés ; c'est ainsi que dans les jaunisses les plus intenses, nous trouvons, en moyenne, huit à dix fois moins de sels que de pigments biliaries. Ces chiffres paraissent particulièrement étranges, rapprochés de ceux de la bile où il y a cinq ou six fois moins de pigments que de sels biliaries. Recherchant quelle pouvait être la cause de cette dissociation Et. Chabrol et H. Benard se sont demandé si les tissus, entre autres facteurs, ne fixeraient pas électivement les sels alors qu'ils auraient une affinité moins grande pour les pigments.

Bariéty, dans sa thèse, s'est également posé cette question. Avec H. Bénard, il a « essayé de préciser ce point en mettant « en contact une solution faible de sels biliaries (1/5.000 environ) avec des globules rouges et des émulsions de différents parenchymes (foie, rein, rate, cerveau, muscle). « Au bout d'une heure à l'étuve à 37° ils centrifugeaient et « ils comparaient l'indice de départ à l'indice stalagmométrique du liquide décanté.

« Ces expériences effectuées *in vitro*, mais sur des parenchymes recueillis vivants, montrent que seule l'émulsion « de parenchyme hépatique s'est montrée douée d'un pouvoir fixateur d'ailleurs léger ».

Nous avons repris cette étude avec MM. Et. Chabrol et R. Charonnat en éprouvant la réaction phospho-vanillique au contact d'un certain nombre de tissus prélevés sur des chiens endormis au chloralose (voir la technique de caractérisation de l'acide cholalique dans les tissus, p. 38).

A) *Tissus de chiens normaux.*

Nos résultats, reposant sur l'observation de 7 chiens normaux, sont consignés dans le tableau VI. Notre méthode d'extraction n'a pas été assez rigoureuse pour que nos chiffres puissent avoir une prétention quantitative : ils donnent simplement un aperçu des grandeurs respectives que nous avons obtenues en partant d'une même unité de poids d'organe et d'une même unité de volume du liquide extractif :

TABLEAU VI

Chiens n°	I	II	III	IV	V	VI	VII
Foie	+	+	+	2	1.3	1	1.6
Pancréas	++	++	+	2.08	0.5	0.7	0.6
Rate	+	0	0	traces	1.2	1.5	1.4
Rein	0	0	0	traces	1	0.8	1.4
Poumon	+		+	0.6	2	1.4	1.8
Cœur			0	1	2.3	1	1
Muscle			+	1.1	1	0.8	1
Surrénale				0	0	0	0
Intestin grêle haut	+++	+++	+++	44	47	28	3
Intestin grêle bas		+		0.5	0.6	4	4.8
Sigmoïde		++		4,4	indol	indol	indol

Pour tous ces organes des réactions de contrôle de l'indol et de ses dérivés ont été faites afin de nous assurer que la couleur rose donnée par la réaction phospho-vanillique était bien due à l'acide cholalique. Cette recherche comparative était particulièrement indiquée en territoire intestinal : elle nous a donné des résultats conformes aux enseignements classiques. C'est ainsi que nous n'avons pas trouvé d'indol,

dans le grêle haut, ni le plus souvent dans le grêle bas, alors que la quantité d'acides biliaires était particulièrement élevée dans ces deux secteurs. Inversement, 3 fois sur 4, la présence de l'indol dans le sigmoïde nous a empêché d'apprécier la teneur en sels biliaires du gros intestin.

Il ressort de ces analyses que le foie n'est pas seul à renfermer l'acide cholalique. La réaction des sels biliaires a sensiblement la même fréquence et la même intensité dans le parenchyme pulmonaire qui devance légèrement le muscle, le cœur, la rate, les reins et le pancréas. Peut-on parler, pour tous ces organes, d'une destruction de cholestérol ou d'une stagnation de l'acide cholalique ? Notons simplement que la surrénale ne nous a, dans aucun cas, donné la réaction phospho-vanillique.

M. R. Charonnat a fait quelques recherches isolées sur le corps jaune de vache, l'ovaire de chienne, le liquide folliculaire de jument, le testicule de taureau ; seul le corps jaune de vache a donné une réaction nettement positive.

B) *Tissus de chiens rendus ictériques.*

Ainsi que l'on peut aisément l'observer en lisant le tableau VII, chez les chiens soumis à une ligature du canal cholédoque, c'est le parenchyme hépatique qui donne la plus belle réaction phospho-vanillique.

Réciproquement, chez ces animaux on note en territoire intestinal un déficit biliaire considérable ; les autres tissus semblent ne pas présenter une rétention plus accusée que chez le chien normal.

Chez le chien rendu ictérique par la toluyène-diamine, le foie semble ne contenir guère plus de sels biliaires qu'à l'état physiologique ; par contre en territoire intestinal l'excrétion cholalique est sensiblement normale.

Ces constatations sont en accord avec les recherches d'Herzfeld et Haemmerli ; dosant les sels biliaires sur les tissus de chiens rendus ictériques par ligature du canal cholédoque, ces auteurs ont rapporté des chiffres voisins des nôtres.

	Chiens ictériques			
	Ligature du cholédoque			Toluyène-Diamine
	I	II	III	IV
Foie	+ + +	4	7,2	2,7
Pancréas	+ +	0,6	0,9	1,9
Rate	+	1,2	1,8	1,4
Rein		0,26	2	2,1
Poumon	+ +	1	1,8	2
Cœur		0,6	0,9	0,9
Muscle.....	+ + +	1,4	1,8	1
Grêle haut	traces	0,8		26
Grêle bas.....	traces	1,8	2,4	traces
Sigmoïde.....		0,6	indol	indol

C) Tissus de cadavres humains.

Nous avons également tenté quelques essais caractérisation de sels biliaires sur des tissus prélevés à l'autopsie de malades décédés dans le service de M. Laubry.

Nous avons examiné le foie de deux cirrhotiques, de deux asystoliques, porteurs l'un d'un rétrécissement mitral, l'autre d'une symphyse cardiaque, enfin d'une tuberculeuse morte de granulie : dans tous ces cas nous avons observé une réaction dont l'intensité était voisine de celle donnée par le foie prélevé sur un chien normal.

D) Que conclure de ces faits ?

Nous nous sommes demandé si ces faits apportaient quelque lumière à la complexité des dissociations pigmento-cholaliques. Le fait de trouver de l'acide cholalique dans le parenchyme hépatique ne nous étonne pas : c'est l'absence au contraire de sels biliaires qui serait surprenante. Le fait que d'autres tissus en dehors du foie en renferment, nous semble également assez logique, chez le chien tout au moins :

n'oublions pas que normalement la cholangémie de cet animal varie de 0 gr. 030 à 0 gr. 035.

Les caractérisations faites sur les parenchymes de chiens rendus ictériques suggèrent quelques remarques. Tout ictère présente une dissociation pigmento-cholangique relative, que ce soit un ictère par obstruction ou un ictère par intoxication toluylène-diaminique : on peut toutefois se demander si dans les obstructions cholédociennes la glande hépatique n'emmagasine pas une certaine quantité des sels biliaires que nous ne pouvons pas mettre en évidence dans la circulation. Cette fixation tissulaire expliquerait, en partie seulement, la dissociation pigmento-cholangique, dans cette circonstance expérimentale.

Répartition dans les humeurs.

A) *Le liquide céphalo-rachidien.*

Nous avons recherché l'acide cholangique sur le liquide céphalo-rachidien d'une malade atteinte d'ictère catarrhal dont la cholangémie était de 0 gr. 080 et sur le liquide céphalo-rachidien de deux chiens rendus expérimentalement ictériques et dont la cholangémie était montée à 0 gr. 180 et 0 gr. 210 ; dans aucun de ces trois cas la réaction phosphovanillique n'a été positive.

Remarquons à ce propos que le liquide céphalo-rachidien était très pauvre en bilirubine ; il y en avait vingt fois moins que dans le sérum chez notre malade et il n'y en avait pas du tout chez nos deux chiens alors que l'ictère des conjonctives était net. Ces constatations sont en accord avec les expériences de Nikolau Klein ; cet auteur a montré que la bilirubine passait dans le liquide céphalo-rachidien seulement s'il y avait méningite, qu'elle soit infectieuse ou toxique.

B) *Le Suc Pancréatique.*

Les sucs pancréatiques de deux chiens normaux étaient dépourvus de sels biliaires.

Ve PARTIE

INTÉRÊT DE L'ÉTUDE DE LA CHOLALÉMIE EN PATHOLOGIE HÉPATIQUE

Parmi les nombreuses fonctions dévolues à la glande hépatique, celle qui préside à l'élaboration de la bile est une des plus importantes et des plus obscures. Elle comprend d'une part la fonction pigmentaire et d'autre part la fonction cholalique, la bile étant essentiellement constituée de pigments et de sels biliaires.

L'exploration de la fonction pigmentaire a été souvent envisagée depuis les travaux de Gilbert et Herscher. On trouvera dans la récente monographie de Fiessinger et Henri Walter une importante bibliographie des nombreuses publications consacrées à cette fonction. Par contre la *fonction cholalique* nous semble avoir été jusqu'à ce jour laissée dans l'ombre et cela, sans doute, faute de techniques suffisamment précises.

I. — Comment étudier la fonction cholalique ?

La compréhension de la fonction cholalique exige l'étude de plusieurs territoires : la bile, les urines et le sang.

C'est sur la bile de l'intestin qu'il paraît tout d'abord logique de porter ses investigations.

Triboulet, en 1910, étudie la fonction cholalique du foie en appliquant la réaction de Pettenkofer au dosage des acides biliaires des fecès. Il s'agissait là d'une technique

bien imparfaite surtout dans l'ignorance où nous sommes de la quantité d'acide cholalique qui peut être réabsorbée par la muqueuse intestinale ; si l'on en croit la théorie du cycle entéro-hépatique de Schiff, la plus grande partie des sels biliaires déversés dans l'intestin serait reprise par la veine porte pour être à nouveau recueillie par le foie.

Lemierre et Brulé (1910) (voir également thèse de Cottin) ont abordé indirectement, cette étude par l'épreuve des hémocoanies qui permet d'évaluer la quantité globale des sels biliaires déversée dans l'intestin. Cette technique qui place au second plan l'intervention du suc pancréatique dans l'absorption des graisses, est fort intéressante quand il s'agit de grosses variations en plus ou en moins dans la quantité de sels biliaires éliminés par le foie ; elle se prête mal à une évaluation exacte de la concentration en acide cholalique du liquide duodéal.

Chabrol, Benard et Gambillard, Gambillard, Chabrol et Marcel Cachin dosent l'acide cholalique de la bile prélevée par tubage. Certes il y a là des causes d'erreur sur lesquelles les auteurs insistent eux-mêmes ; la bile retirée par la sonde d'Einhorn est toujours plus ou moins souillée de salive, de sucs gastrique, intestinal, pancréatique ; les auteurs évitent ces inconvénients en exprimant la concentration de l'acide cholalique en fonction de la richesse pigmentaire du liquide duodéal ; mais même en employant ce procédé, la notion de débit, la seule vraiment importante, échappe toujours à l'observateur. D'ailleurs ainsi que nous l'avons montré expérimentalement avec MM. Chabrol et Marcel Cachin, le débit horaire des sels biliaires varie dans de larges limites d'une heure à l'autre ; et, chose curieuse, contrairement à ce qu'on observe pour les pigments, la concentration en acide cholalique varie dans le même sens que le débit hydrique.

L'urine est encore moins abordable que la bile lorsqu'on veut étudier quantitativement le cycle des sels biliaires. Si les méthodes physiques basées sur l'abaissement de la tension superficielle, la réaction de Hay, éprouvée par Chauffard et Gouraud, Cluzet et Frenkel et surtout par

Brulé, la stalagmométrie (Gilbert, Chabrol et Bénard, Doumer) peuvent donner un aperçu indirect de la cholalurie, elles sont totalement incapables de renseigner sur la teneur de l'urine en sels biliaires.

D'ailleurs, en supposant que l'avenir nous apporte une méthode précise permettant la mesure de la cholalurie, il serait illogique de rechercher dans les urines le reflet d'une substance que l'on peut étudier directement *dans le sérum sanguin*. Tout porte à penser que l'acide cholalique n'échappe pas à la loi des seuils d'excrétion ; on est de plus en droit de se demander si, en traversant le parenchyme rénal, les sels biliaires ne subissent pas des modifications dans leur constitution. En admettant que ces inconnues trouvent un jour leur solution, il faudra pour pouvoir établir un bilan rigoureux, connaître parallèlement la quantité de sels biliaires qui est déversée chaque jour par le cholédoque et la quantité qui est réabsorbée par l'intestin. C'est dire les difficultés quasi insurmontables que rencontrera le physiologiste désireux d'apporter sur cette question une complète lumière.

En mettant au point une méthode de dosage assez précise et assez sensible pour suivre la cholalémie des hépatiques nous pensons avoir exploré un territoire bien défini ; mais nous sommes les premiers à reconnaître que cette étude ne peut éclairer que fort imparfaitement le problème.

Nous ignorons encore si les sels biliaires n'existent pas en quantité très minime dans le sang des sujets normaux ; rien ne nous permet de dire si le foie se comporte vis-à-vis d'eux comme un filtre parfait ou s'il est l'origine essentielle de leur élaboration.

Aussi est-ce avec une grande prudence que nous essayerons, de situer la cholalémie dans la classification moderne des ictères.

II. — Cholalémie et classification des ictères

En dosant chez tous nos malades les pigments et les sels biliaires nous nous sommes aperçus que comparativement à la bilirubine, il y avait des taux d'acide cholalique fort

variables ; nous avons exprimé ces faits sous le nom de dissociation pigmento-cholalique et nous en avons décrit trois types : *dissociations relative, accentuée ou absolue* (voir page 63).

Ces constatations donnent un nouvel intérêt aux belles recherches de MM. Lemierre et Brulé, Brulé et Garban ⁽²⁾ qui ont employé pour la première fois la dénomination d'*ictères dissociés*, en se basant sur les résultats de l'épreuve des hémocoanies et de la réaction de Hay.

Les travaux de M. Brulé peuvent se résumer ainsi : à côté des ictères francs, dont le type est l'obstruction cholédocienne et où pigments et sels, retenus dans le sang, passent en abondance dans les urines, il existe des rétentions isolées de pigments biliaires chez des malades très jaunes dont les matières fécales sont complètement décolorées et qui offrent cependant une réaction de Hay négative dans les urines.

Les rétentions isolées portant sur les pigments peuvent exister pendant toute la période d'état des ictères catarrhaux, mais le plus souvent on les rencontre seulement au début ou à la fin de la jaunisse. A côté de ces cas purs, M. Brulé cite ceux où il y aurait une rétention totale de pigments alors qu'il n'y a qu'une rétention légère de sels.

Réciproquement, Brulé conçoit l'existence d'une rétention isolée de sels biliaires ; il exige pour l'affirmer, l'absence dans les urines, de pigments et d'urobiline. Cette variété de dissociation est très rare. Le plus souvent on rencontrerait une rétention complète des sels coïncidant avec une rétention partielle de pigments.

Lemierre et Brulé ont tiré de ces faits d'importantes déductions concernant la physio-pathologie des ictères : « Que « l'on attribue l'ictère à une cholédocite, à une angiocholite, « ou même à une lésion des canalicules biliaires intercellu- « laires, toutes ces hypothèses se heurtent, sans pouvoir

(1) Ne pouvant faire ici l'historique complet des ictères dissociés nous renvoyons aux travaux de :

Lemierre et Brulé, Brault et Garban, Fiessinger et Lyon-Caen, Lyon-Caen, Lemierre et Abrami, Abrami et Gauthier, Chauffard, Croissant, Faugeron, Gouget, Langevin et Brulé, Prosper Merklen, Baliasny, Bouchut et Lamy, Chabrol et Benard, Blankenhorn, Katayama, Niro Endo, Gounelle, Kabaker et Warter.

« l'expliquer, à ce fait actuellement bien établi : l'existence
« de retentions biliaires portant électivement tantôt sur
« les pigments, tantôt sur les sels. Si l'on admet, pour expli-
« quer l'ictère, une oblitération des voies biliaires, en quel-
« que point que siège l'obstacle, c'est une rétention parallèle
« et simultanée de tous les éléments de la bile que l'on doit
« toujours observer, comme on l'observe d'ailleurs dans les
« lithiases cholédociennes ou dans les cancers du pancréas.
« Les rétentions biliaires dissociées impliquent l'interven-
« tion d'un organe glandulaire, capable de sécréter électi-
« vement soit le pigment soit le sel biliaire.

« En présence de tels faits une comparaison s'impose à
« l'esprit entre les affections du foie et celles du rein. On
« peut comparer, d'une part, l'ictère de la lithiase cholédo-
« cienne ou du cancer [du pancréas à l'anurie lithiasique
« ou à l'anurie du cancer de l'utérus. Mais, d'autre part,
« on peut comparer les rétentions isolées des pigments ou
« des sels biliaires aux rétentions isolées soit des chlorures,
« soit de l'urée qui traduisent des lésions plus ou moins
« graves du parenchyme rénal. Ainsi, dans l'un ou l'autre
« cas, à côté des troubles d'*excrétion* par obstruction des
« conduits, il nous semble exister des troubles de *sécrétion*
« par lésion de la cellule glandulaire. » (Brulé).

MM. Et. Chabrol et H. Bénard, Gambillard ont donné
un sens beaucoup plus large à la dénomination d'ictère
dissocié, puisque selon eux, tout ictère comporte à son ori-
gine une dissociation au profit des pigments. Nous laisserons
ces auteurs exprimer eux-mêmes leur conception des ictères
dissociés en rapportant les lignes suivantes extraites de
leurs publications.

« Chez les malades atteints d'ictère catarrhal, les pig-
« ments biliaires parviennent dans le duodénum en quan-
« tité très notable, au taux de 1 p. 2.000 en moyenne, mais
« chose curieuse, alors que suivant l'hypothèse de Lemierre
« et Brulé, on s'attend à trouver dans l'intestin une quantité
« de sels biliaires sensiblement voisine du chiffre physiolo-
« gique, on est surpris de constater que, toutes proportions
« gardées, il y a moins de sels biliaires que de bilirubine dans
« leur duodénum. La dissociation qui existait dans les

« urines au profit des pigments se retrouve dans le même
« sens, et non pas en sens inverse dans la voie intestinale.
« On n'est donc pas en droit de parler de rétention dissociée
« et d'attribuer à la cellule du foie un pouvoir de sélection
« que le tubage d'Einhorn ne démontre en aucune manière.
« Et cependant l'ictère dissocié existe, puisqu'il existe des
« sujets très jaunes dont les urines ont une réaction de
« Gmelin positive, alors que la réaction de Hay fait complète-
« ment défaut. Comment interpréter cet ictère dissocié
« pigmentaire ? »

Les auteurs estiment qu'entre l'émonctoire hépatique et le bocal d'urine qui nous donne à distance l'aperçu de cet émonctoire, il existe en clinique bien des facteurs intermédiaires : « C'est d'abord un facteur tissulaire dont le méca-
« nisme intime nous échappe mais que l'on peut entrevoir
« en se reportant à l'étude des maladies aiguës, à leurs
« phases de rétention, à leurs brusques débâcles d'urée ou
« de chlorures. Il faut également tenir compte des transfor-
« mations que les sels biliaires peuvent subir dans le sang
« ou dans l'intimité des tissus ; à cette question se rattache
« l'intéressant problème de la cholémie saline et de la cholestérinémie, les glyco-taurocholates et la cholestérine ayant
« un lien de parenté dans leur noyau commun, l'acide cholalique.

« C'est ensuite un facteur rénal qui par ses seuils d'élimi-
« nation de hauteur inégale ne permet pas aux pigments et
« aux sels d'être excrétés suivant deux courbes superpo-
« sables. C'est enfin et surtout un facteur biligénique : bili-
« génie pigmentaire, biligénie saline ; la conception de Brulé
« postule que ces deux termes restent dans le même rapport
« physiologique durant le cours d'un ictère par rétention :
« nous pensons volontiers que c'est dans la biligénie que
« réside la dissociation. L'appauvrissement de l'organisme
« en sels biliaires suffit, selon nous, à expliquer la dispari-
« tion de la réaction de Hay dans les urines : le tubage duodé-
« nal a pu nous en convaincre. »

Marcel Labbé et Edmond Doumer pensent que dans les ictères durant un certain temps la disparition de l'acide cholalique des urines, et donc du sang, « peut être le résultat

d'une sorte d'acholalie relative » ; ils appuient leur hypothèse sur les constatations suivantes : il suffit de faire ingérer 1 gr. 50 de sels biliaires à un malade présentant à la fin d'un ictère, une réaction de Hay négative, pour voir aussitôt « l'élimination des substances abaissantes augmenter de façon manifeste », et ce résultat, écrivent Labbé et Doumer, « est incompatible avec l'intégrité de la fonction cholalique ». Si l'explication de Marcel Labbé et Edmond Doumer est plausible dans certains cas, elle ne saurait expliquer toutes les dissociations puisque, ainsi que nous l'avons montré, des dissociations pigmento-cholaliques accentuées peuvent exister dès le début d'un ictère et puisque d'autre part un ictère peut évoluer pendant de longs mois (quinze années dans une observation de cirrhose ictérigène, sept mois dans un cas de calcul du chodéloque) en ne présentant que la dissociation relative des ictères les plus complets. D'ailleurs la bile de nos malades présentant une dissociation pigmento-cholalique absolue contenait toujours une certaine quantité de sels biliaires. Parfois la concentration était faible, par rapport à la bilirubine biliaire, mais jamais nous n'avons observé d'acholie saline.

*
* *

Les faits personnels que nous rapportons dans ce travail reposent uniquement sur l'étude du sang, aussi nous nous garderons d'aborder la question si complexe du métabolisme des sels biliaires au cours des ictères. Restant sur le terrain des faits, une constatation nous semble acquise, *c'est l'existence constante des dissociations pigmento-cholaliques, dissociations qui peuvent être plus ou moins accusées suivant que l'ictère est d'origine cholédocienne ou non.* Or, si l'étude que nous avons faite ne nous permet pas d'établir une classification physio-pathologique des ictères, elle nous permet cependant d'en proposer une classification clinique.

III. — Valeur pronostique et séméiologique de la cholangémie

La cholangémie ne permet pas d'évaluer le degré de l'insuffisance hépatique. Une cirrhose grave ou une cirrhose bien tolérée peuvent s'accompagner d'un même chiffre de sels biliaires dans le sang. Un ictère spirochétosique bénin ou un ictère streptococcique qui évolue vers la mort peuvent présenter la même dissociation pigmento-cholangique accentuée. Un ictère catarrhal guérissant en une vingtaine de jours peut, vers le quinzième, montrer la même dissociation que l'ictère catarrhal prolongé qui évoluera en huit semaines.

Si la cholangémie ne peut laisser prévoir le degré des lésions de la cellule hépatique, elle peut par contre, rapprochée de la bilirubinémie, fournir quelques *éclaircissements sur la pathogénie des ictères.*

Nous voudrions ici, dans une rapide vue synthétique, réunir ce que nous avons envisagé, analytiquement, dans les chapitres traitant de la cholangémie des ictériques :

Si dans les deux à trois premières semaines d'un ictère, il y a *dissociation pigmento-cholangique relative*, c'est-à-dire par exemple 0 gr. 150 ou 0 gr. 100 d'acide cholangique pour 1 gr. 50 ou 1 gr. 00 de bilirubine, on est en droit de penser soit à une obstruction des voies biliaires, soit à un ictère catarrhal.

Trouver encore à la fin de la troisième ou quatrième semaine une dissociation pigmento-cholangique relative, est plus en faveur d'une obstruction cholédocienne que d'un ictère catarrhal prolongé et la durée de l'ictère ne peut que renforcer cette hypothèse.

Observe-t-on une *dissociation pigmento-cholangique accentuée ou absolue*, c'est à toutes les phases de l'ictère, un argument contre l'hypothèse d'un obstacle cholédocien et un

signe en faveur soit d'un ictère catarrhal, soit d'un ictère infectieux, soit d'une cirrhose ictérigène (Dissociation précoce de Brulé au cours de l'ictère catarrhal) (1).

Sans vouloir trop schématiser, résumons dans le tableau ci-joint les enseignements que le diagnostic différentiel des ictères peut trouver dans la recherche des dissociations pigmento-cholaliques :

Date de l'ictère	Dissociation pigmento-cholalique relative (Le taux des pigments est cinq à dix fois plus élevé que celui des sels biliaires).	Dissociation pigmento-cholalique accentuée (Le taux des pigments est quinze à trente fois plus élevé que celui des sels biliaires)	Dissociation pigmento-cholalique absolue (Il n'y a que des pigments)
Pendant les trois premières semaines	Obstruction cholédocienne ou Ictère catarrhal	Ictère infectieux Cirrhose ictérigène	Ictère hémolytique ou Cirrhose ictérigène ou Ictère infectieux
De la fin de la troisième semaine à la fin de la sixième semaine	Obstruction cholédocienne Ictère catarrhal moins probable	Ictère catarrhal en voie de guérison ou Ictère infectieux ou Cirrhose ictérigène	Ictère catarrhal en voie de guérison ou Cirrhose ictérigène ou Ictère infectieux
Après la sixième semaine (1)	Obstruction cholédocienne fort probable.	Ictère catarrhal en voie de guérison ou Ictère infectieux ou Cirrhose ictérigène	Ictère catarrhal en voie de guérison ou Cirrhose ictérigène ou Ictère infectieux (1)

(1) Il ne faut cependant pas oublier qu'une obstruction cholédocienne peut, au 3^e ou 4^e mois de la jaunisse, alors que le malade est dans un état cachectique, présenter une dissociation accentuée ou absolue.

IV. — Intérêt comparatif de la cholémie et de la bilirubinémie (1)

Est-il plus important de doser dans un sérum la bilirubine ou l'acide cholalique ?

Cette question doit être envisagée à un double point de vue : celui du pronostic et celui du diagnostic. Envisageons d'abord *le pronostic*.

Dans aucun cas, la recherche de la cholémie, qu'elle soit pigmentaire ou saline, ne peut fournir une indication concernant la gravité de l'atteinte du parenchyme hépatique ; des chiffres faibles ou des chiffres élevés ne nous renseignent nullement sur le degré de l'insuffisance hépatique. La baisse de la bilirubinémie ou de la cholémie au cours d'un ictère n'a pas la valeur de la chute de l'azotémie au cours d'une néphrite. Rappelons seulement qu'au cours de l'ictère catarrhal une disparition précoce des sels biliaires constitue un élément de pronostic très favorable à une phase où la bilirubinémie est encore stable.

Que peut attendre le *diagnostic* de notre étude comparative ? Au cours des ictères latents, ou plus exactement chez un malade cliniquement sans ictère, la bilirubinémie est le signe le plus fidèle et le plus abordable. Elle est précieuse, ainsi que Chabrol et Busson l'ont rappelé dernièrement encore, pour étayer le diagnostic des cholécystites ; c'est elle qui nous révèlera, chez un dyspeptique, les premiers signes de la défaillance hépatique. Thiébault, dans sa thèse, Dieryck dans son rapport de Vichy, Fiessinger et Henry Walter, dans leur livre récent, ont longuement passé en revue tous ces faits ; nous n'y reviendrons pas.

La mesure de la cholémie n'est pas sans intérêt au cours de ces faibles bilirubinémies. N'oublions pas que l'absence répétée des sels biliaires du sang faisant contraste avec le taux relativement élevé de la bilirubine plaide en faveur d'un processus hémolytique ; inversement, une cholémie serait-

(1) Nous n'aurons en vue ici, que l'étude *quantitative* de la bilirubinémie et non pas son étude *qualitative* ainsi que Hymans van den Berg l'a envisagé dès 1915 et plus tard Brulé, Garban et Weissmann.

elle très faible, de l'ordre de 0 gr. 020 par exemple, peut faire affirmer l'existence d'un processus hépatique, conclusion que l'on n'est pas toujours en droit de porter sur la seule constatation d'une hyperbilirubinémie.

Au cours des ictères francs, il importe peu de s'attarder à l'évaluation précise des pigments. Modifions-nous notre diagnostic parce qu'il y aura 1 gr. 50 ou 1 gr. 80 de bilirubinémie ? Certes, nous n'oublions pas que c'est au cours des ictères par obstruction que l'on décèle les plus fortes cholémies pigmentaires. Mais nous croyons devoir souligner que chez les malades très jaunes c'est surtout l'étude de la cholalémie qui a le plus d'un intérêt. Y a-t-il dissociation relative, accentuée ou absolue ? Suivant la date de la jaunisse nous pourrions en tirer, ainsi que nous l'avons écrit plus haut, d'importantes déductions concernant la nature de l'ictère.

CONCLUSIONS

1^o Après avoir passé en revue les différentes techniques proposées pour doser l'acide cholalique du sérum sanguin, nous avons reconnu les difficultés de leur application clinique : tantôt la méthode est trop compliquée, tantôt elle est dépourvue de spécificité, tantôt elle manque de sensibilité.

Nous avons étudié avec MM. Et. Chabrol et R. Charonnat un procédé de caractérisation des sels biliaires utilisant la réaction rose donnée par l'acide phosphorique et la vanilline en présence de l'acide cholalique. Cette réaction appliquée au sérum sanguin permet dans tout laboratoire l'étude de la cholalémie.

On peut appliquer la même réaction au dosage des sels biliaires de la bile et à leur caractérisation dans les tissus.

2^o La réaction phospho-vanillique est toujours négative dans le sang humain à l'état normal. Il n'en est pas ainsi dans certaines espèces animales : notamment chez le chien la cholalémie physiologique atteint 0 gr. 030 o/100.

Au cours de toutes les variétés de jaunisse, les pigments sont augmentés dans une proportion beaucoup plus grande que les sels biliaires : dans les cholalémies les plus élevées la bilirubine est cinq à dix fois plus abondante que l'acide cholalique : nous disons que *cette dissociation pigmento-cholalique est relative*.

Les ictères par obstruction cholédocienne s'accompagnent d'une dissociation pigmento-cholalique relative pendant toute la durée de leur évolution. Ce n'est que lorsqu'ils se prolongent pendant des mois et qu'un état cachectique s'installe qu'on peut voir les sels biliaires disparaître du sang.

L'ictère catarrhal se comporte, au début, comme le cancer ou la lithiase ictérigène. Plus tard, au troisième ou quatrième septenaire, l'ictère peut s'accompagner d'une *dissociation pigmento-cholalique accentuée ou absolue* : le rapport des sels aux pigments devient de 1 à 15 ou 30 ou 50 ; parfois même les sels disparaissent complètement alors que le sérum est encore très jaune.

Les ictères infectieux présentent une cholémie saline mieux tranchée encore puisque, dans 90 % des cas, durant toute leur évolution le taux des sels biliaires du sang reste remarquablement faible par rapport à celui des pigments qui est vingt à cent fois plus élevé.

Au cours des cirrhoses anictériques, qu'elles soient hypertrophiques ou atrophiques, le taux de la cholémie oscille de 0 à 0 gr. 060 ‰ pour une bilirubinémie allant de 0 gr. 020 à 0 gr. 200.

Au cours des cirrhoses s'accompagnant d'un ictère durant toute leur évolution, la dissociation pigmento-cholalique atteint son apogée : ou bien les sels biliaires sont totalement absents du sérum, malgré une jaunisse intense (*dissociation absolue*) ou bien on note cinquante ou cent fois plus de pigments que de sels (*dissociation accentuée*).

Chez les sujets ne présentant ni cirrhose ni ictère, la réaction phospho-vanillique est le plus souvent négative ; chaque fois que nous avons trouvé une cholémie élevée, la bilirubinémie également présentait, le plus souvent, un taux pathologique et il y avait toujours lieu de soupçonner une adultération concomitante du foie.

3^o Sur le terrain expérimental, la réaction phospho-vanillique nous a permis de rechercher la présence des sels biliaires dans différents tissus. Elle en a révélé des quantités appréciables dans le foie et le poumon, le pancréas et les muscles ; s'il en existe accessoirement dans la rate et les reins, nous n'en avons pas trouvé dans la surrénale.

Chez le chien rendu ictérique par ligature du canal cholédoque, le taux des sels biliaires augmente surtout dans le parenchyme du foie.

Chez le chien rendu ictérique par la toluène-diamine les

tissus ne semblent pas présenter une rétention saline plus accusée qu'à l'état physiologique.

4^o Sans préjuger du métabolisme des sels biliaires, nous sommes conduits à reconnaître qu'en clinique, le principal intérêt de la cholangémie touche à l'étude des ictères et que la dissociation pigmento-cholangique, constante dans ce syndrome, fournit suivant son degré toute une gamme de nuances susceptibles d'éclairer le diagnostic étiologique.

Vu : Le Doyen,
ROUSSY.

Vu : le Président de Thèse,
LÉPER.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris ;

CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAMI (P.) et GAUTIER. — Un cas d'ictère au cours de la fièvre typhoïde. Dissociation de l'excrétion biliaire. *Bull. et Mém. Soc. Méd., Hôp. Paris*, 20 décembre 1912, p. 854.
- ABRAMI (P.) et WORMS (Robert). — Bradycardie au cours d'une spino chétose ictérigène sans rétention de sels biliaires. *Bull. et Mém. Soc. Méd., Hôp. de Paris*, 23 mai 1930, p. 904.
- ALDRICH (M.) and BLENSOE (M. S.). — Studies in the Metabolism of the bile. I. A. quantitative Pettenkofer Test applicable to the determination of bile acids in the Blood. *Journ. of Biolog. Chem.*, 1928, t. LXXVIII, p. 519.
- ADLER (M.). — Ueber Verhalten und Wirkung von Gallensauren im Organismus. *Ztschr. f. ges. exp. Med.*, 1925, t. XLVI, p. 671.
- AUBERTIN (Ch.) et POUMAILLOUX (M.). — Spirochétose ictéro-hémorragique mortelle d'origine hydrique. *Bull. et Mém. de Soc. Méd. Hôp. Paris*, 22 janvier 1929, p. 114.
- BALIASNY. — Rétention biliaire dissociée. Thèse Genève, 1918.
- BARIETY (M.). — Des sels biliaires. Méthodes de caractérisation. Étude physio-clinique. Thèse de Médecine, Paris 1927.
- BARIETY (M.) et DEPARIS (M.). — Un nouveau cas mortel de spirochétose ictérigène. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 13 janvier 1933, p. 11.
- BERNARD (Et.) et GILBERT-DREYFUS. — Rôle de l'action hypothermisanse de l'azotémie sur la courbe thermique de la spirochétose ictérigène. *Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. Paris*, 4 nov. 1927, p. 1467.
- BLANKENHORN (M. A.). — The bile content of the blood in pernicious anemia. *Arch. of Int. Med.*, 1917, t. XIX, p. 344.
- BLANKENHORN (M. A.). — The distribution of bile in certain types of jaundice. *Arch. of int. Med.*, t. XXI, p. 282.
- BOUCHUT et LAMY. — Rétentions biliaires dissociées. *Lyon Médical*, CXXIX, n° 2, 25 janvier 1920, p. 53.
- BRAULT (A.) et GARBAN (H.). — Dissociation de la sécrétion biliaire au cours de deux cas d'ictère catarrhal. Rétention isolée des pigments biliaires. *Bull. et Mem. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 7 février 1913, p. 358.
- BRAULT (A.) et GARBAN (H.). — Les troubles de la fonction biliaire dans la cirrhose acoolique. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 30 janv. 1914 p. 161 et *Paris-Médical*, n° 27, 6 juin 1914.
- BRULÉ (M.). — Recherches sur les Ictères. Masson, 3^e édition.

- BRULÉ (M.), COTTET (Jean) et NETTER (Albert). — Deux nouveaux cas d'ictère par choledocite traités par tubage du duodénum. *Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, séance du 1^{er} mars 1935. n° 8.
- BRULÉ (M.) et GARBAN (H.). — La rétention des sels biliaires dans les affections du foie sans ictère. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 6 mars 1914, p. 407.
- BRULÉ (M.) et GARBAN (H.). — Les ictères, in Foie. *Traité de Pathologie Médicale et de Thérapeutique Appliquée*. Maloine, édit., 1920.
- BRULÉ (M.), GARBAN (H.) et WEISSMANN (Ch.). — L'étude de la bilirubine du sérum sanguin peut-elle aider à reconnaître la nature d'un ictère ? *Presse Médicale*, n° 91, 15 novembre 1935, p. 986.
- CARNOT (Paul) et WEILL (Jean). — Ictère spirochétosique après suicide par submersion. *Paris Médical*, n° 20, 19 mai 1934, p. 438.
- CHABROL (E.). — Les Ictères, Masson, Ed., 1932.
- CHABROL (Et.) et BERNARD (H.). — Cholémie saline et cholestérinémie. *Gazette des Hôpitaux*, 9 avril 1921, n° 28, p. 437.
- CHABROL (Et.) et BENARD (H.). — Les Ictères. *Actualités Médicales*, J. B. Baillière et fils, 1921, 1 vol. in-36.
- CHABROL (Et.), BENARD (H.) et BARIETY (M.). — Recherches sur les sels biliaires en pathologie hépatique. *Presse Médicale*, 7 juillet 1928, n° 54, p. 849.
- CHABROL (Et.), BERARD (H.) et GAMBILLARD (M.). — Le tubage duodéal dans les ictères et les cirrhoses du foie. *Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 18 déc. 1922.
- CHABROL (Et.), BENARD (H.) et GAMBILLARD (M.). — Le tubage duodéal en pathologie hépatique et biliaire. *Journal Médical Français*, p. 92, décembre 1924.
- CHABROL (Et.) et BUSSON (A.). — Recherches quantitatives sur la cholémie pigmentaire à l'état physiologique. *Presse Médicale*, n° 79, 1933 p. 1513.
- CHABROL (Et.) et BUSSON (A.). — L'ictère latent des cholécystites chroniques. Son intérêt diagnostic et thérapeutique. *Presse Médicale*, n° 12, 10 février 1934, p. 228.
- CHABROL (Et.) BUSSON (A.) et CACHIN (Marcel). — La bilirubine de réserve. *Paris Médical*, n° 20, 19 mai 1934, p. 429.
- CHABROL (Et.) et CACHIN (M.). — Rapport sur la cholestérinémie. L'émonctoïre hépatique de la cholestérine. (*Bull. Soc. de thérapeutique*, séance solennelle du 18 octobre 1934).
- CHABROL (Et.) et CACHIN (M.). — Recherches cliniques sur la sécrétion biliaire. A propos d'une statistique récente de 300 tubages duodénaux. *Presse Médicale*, n° 22, 16 mars 1935, p. 425.
- CHABROL (Et.) CHARONNAT (R.) et BUSSON (A.). — Le dosage des pigments biliaires du sang. La diazo-réaction limite. *Presse Médicale*, 6 février 1932, p. 193.
- CHABROL (Et.) CHARONNAT (R.), COTTET (J.) et BLONDE (P.). — Une nouvelle technique de dosage des sels biliaires (réaction phospho-vanillique). *C. R. Soc. de biol.*, 1934, t. CXV, p. 834.

- CHABROL (E.), CHARONNAT (R.) et COTTET (J.). — La recherche des sels biliaires dans le sérum sanguin par la réaction phospho-vanillique. *C. R. Soc. de biol.*, 1934, t. CXV, p. 835.
- CHABROL (E.), CHARONNAT (R.), COTTET (Jean) et CACHIN (M.). — Une nouvelle technique de dosage des sels biliaires dans le liquide duodénal. *C. R. Soc. Biol.*, 9 juin 1934.
- CHABROL (Et.) CHARONNAT (R.), COTTET (Jean) et CACHIN (Marcel). — Recherches sur l'excrétion comparative des principes biliaires au cours des cholérèses expérimentales. *C. R. Soc. de Biol.*, 9 juin 1934.
- CHABROL (Et.), CHARONNAT (R.) et COTTET (Jean). — La réaction phospho-vanillique dans les extraits pulmonaires du chien normal. *C. R. Soc. Biol.*, Séance du 9 mars 1935, t. CXVIII, p. 980.
- CHABROL (Et.), CHARONNAT (R.) et COTTET (Jean). — La réaction phospho-vanillique dans les extraits tissulaires du chien normal. *C. R. Soc. Biol.* Séance du 9 mars 1935, t. CXVIII, p. 982.
- CHABROL (Et.), CHARONNAT (R.) et COTTET (Jean). — La réaction phospho-vanillique des sels biliaires dans les extraits tissulaires du chien ictérique. *C. R. Soc. Biol.* Séance du 30 mars 1935, t. CXVIII, p. 1316.
- CHABROL (Et.) et COTTET (Jean). — Le dosage des sels biliaires du sang chez les ictériques. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, séance du 29 mars 1935, p. 590.
- CHABROL (Et.) et COTTET (Jean). — Recherches sur les sels biliaires du sang chez les ictériques. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, séance du 29 mars 1935, p. 595.
- CHARLET (M.). — Der Gehalt des Blutes an Gallensäure unter verschiedenen physiologischen Bedingungen. *Biochem. Ztschr.* 1929, t. CCX p. 42 in : *Le Sang*, 1931, t. V, p. 473.
- CHAUFFARD. — Les dissociations des états cholémiques. *Presse Médicale*, 29 janvier 1913.
- CHAUFFARD et GOURAUD. — Valeur clinique de la réaction de Haycraft pour la recherche des principes biliaires dans les urines. *Journ. Physiol. et Path. générale*, 1901, p. 46.
- CHIRAY (M.) et CUNY (L.). — Dosage des acides biliaires dans le liquide duodénal prélevé par tubage. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1927, 3, 474.
- CHIRAY (M.) et CUNY (L.). — Sur le dosage colorimétrique des sels biliaires dans la bile et le liquide duodénal. Modifications de technique. *Journ. Pharm. Chim.*, 1929, 9, 202 et 250.
- CHIRAY (M.) et THIEBAULT. — Les Fonctions hépato-biliaires. Valeur et choix des tests de l'insuffisance hépatique. Masson, édit. 1930.
- CLOTTENS. — Estimation quantitative des sels biliaires dans le sérum. *Soc. Méd. de Montpellier*, juin 1922.
- CLOTTENS. — Essai de pathogénie des états cholalémiques. Th. Montpellier, 1922.
- CLUZET et FRENKEL. — Recherches sur la tension superficielle des urines. *Journ. de Physiol. et de Path. générale*, 1901, p. 99 et 131.
- COQUELET (O.). — Microdosage colorimétrique des sels biliaires. *C. R. Soc. de biol.*, 1927, t. XCVII, p. 1815.

- COTTET (Jean) et MION (R. J.). — Le dosage des acides biliaires dans le sang. Méthodes et résultats. *Revue Médico-Chirurgicale des Maladies du Foie, du Pancréas et de la Rate*, 1935.
- COTTIN. — Étude sur les homoconies. Thèse, Paris, 1911.
- CROISSANT (Roger). — Recherches sur la dissociation de la sécrétion biliaire, Thèse, Paris, 1913.
- CUNY (L.). — Le dosage des sels biliaires dans la bile et le liquide duodénal. Thèse Pharmacie, 1930. Masson, édit.
- DASSEN (Rodolfo). — Colemia (dosaje de pigmentos y acidos) urobilinemia y urobilinuria en diferentes hepatopatias. *La Semana Medica*, 1930, t. XXXVII, n° 1, p. 30.
- DIERYCK (J.). — L'exploration fonctionnelle du foie dans l'ictère lithiasique. Méthodes chimiques. Congrès International de la lithiasie biliaire. Vichy, 1930, Doin, édit., Paris.
- DOUMER (Edmond). — Recherches pour servir à l'étude de la cholalurie. Th. Paris 1922, *Edit. médicale*.
- DRECHSEL (E.). — Ueber die Anwendung von Phosphorsäure anstatt Schwefelsäure bei der Pettenkoferschen Reaktion und Gallensäuren. *J. G. Prakt. Chem.*, 1883, 27, 244.
- ETCHEVERRY (M. A.). — Les acides biliaires. Quelques recherches cliniques et biologiques. *Archives argentinas del enfermedades del aparato digestivo*, t. VII, n° 3, février-mars 1932.
- FAUGERON. — Dissociation de la rétention biliaire. Thèse, Paris. 1913.
- FELTZ (V.) et RITTER (E.). — Recherches sur les effets de la ligature du canal cholédoque et sur l'état du sang dans les ictères malins. *Compt. Rend. de l'Acad. des Sc.*, 1875, t. LXXXV, p. 675.
- FIESSINGER (N.). — Ictère chronique avec décoloration des matières au cours des cirrhoses biveineuses du foie. *Arch. Gén. de Méd.*, 27 juill. 1906.
- FIESSINGER (N.) et LYON-CAEN. — Journal de Physiologie et de Pathogénie Générale. Novembre 1910.
- FIESSINGER (N.) et WALTER (H.). — L'exploration fonctionnelle du foie et l'insuffisance hépatique. Masson, Ed. 1925.
- FLEIG (G.). — Réactions colorées de l'huile de sésame avec les divers sucres. Réactions comparées des acides biliaires. *Bull. Soc. Chim.*, 1908, 4^e série, t. III, p. 992.
- FOUCHET. — Méthode de dosage de la bilirubine du sérum sanguin. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 16 janvier 1918.
- FREY (S.). — Ein Versuch die Gallensäuren im Serum Ikterischer quantitativ zu erfassen. *Klin. Woch.*, 1923, n° 40, p. 1837.
- GAMBILLARD (M.). — Le tubage duodénal en pathologie hépatique. Thèse, Paris, 1924.
- GILBERT (A.), CHABROL (E.) et BENARD (H.). — La cholémie saline dans les ictères. *C. R. Soc. de Biol.*, 1920, t. LXXXIII, p. 1602.
- GILBERT (A.), CHABROL (Et.) et BENARD (H.). — Recherches stalagmométriques sur la cholurie saline. *C. R. Soc. Biol.*, 15 janvier 1921.
- GIRAUD (G.), GIRAUD (Marthe) et MONNIER (Pierre). — De la signifi-

- tion de l'indoxylémie. *Journal Médical Français*, t. XXII, n° 7, juillet 1933, p. 234.
- GOUNELLE, KABAKER et WARTER. — Ictère catarrhal d'origine dissociée. *Soc. de Méd. du Bas-Rhin*, décembre 1934.
- GREGORY (R.) and PASCOE (T. A.). — The quantitative determination of bile acids by means of a new color reaction and monochromatic light. *Journ. of Biolog. Chem.*, 1929, t. LXXXIII, p. 35.
- GRIGAUT. — Le cycle de la cholestérinémie. Thèse, Paris, 1913.
- GOUGET. — Les cholémies dissociées *Presse Médicale*, 7 février 1914.
- GUIER. — Des cirrhoses mixtes. Thèse, Paris, 1881.
- GUY-LAROCHE, GRIGAUT, SERANE, BREHIER. — L'indoxylémie. *Journal Médical Français*, t. XXII, n° 7, juillet 1933, p. 230.
- GUY-LAROCHE et POMMEAU-DELILLE. — Recherches cliniques et expérimentales sur l'indoxylurie. *Annales de Médecine*, 1932, t. XXXI, p. 349.
- HERZFELD (E.) und HAEMMERLI (A.). — Die Galle im Stoffwechsel. Eine neue quantitative Gallensäure-Bestimmungsmethode. *Schweiz. Med. Woch.*, 1924, t. LIV, p. 141.
- HERZFELD (E.) und HAEMMERLI (A.). — Die galle im Stoffwechsel. *Schweiz. med. Woch.*, 1925, t. LV, p. 142 et 164.
- HOOVER (C. F.) and BLANKENHORN (M. A.). — Dissociated Jaundice. *Arch. of Int. Med.*, 1916, t. XVIII, p. 289.
- HUPPERT (H.). — Ueber das Schicksal der Gallensäure im Icterus. *Arch. Heilk.*, 1864, t. V, p. 236.
- HYMANS VAN DEN BERGH. — La recherche de la bilirubine dans le plasma sanguin par la méthode de la réaction diazoïque. *Presse Médicale*, n° 45, 4 juin 1921, p. 441.
- INOUE (L.) et ITO (H.). — Ueber eine Farben und Spektral reaktion der Gallensäuren mit Vanillin und Schwefelsäure. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1908, 57, 313.
- JENKE (M.). — Bemerkungen zu der Arbeit « Zur polarimetrischen Gallensäure-Bestimmung in Körperflüssigkeiten und Organen », von F. Rosenthal. *Arch. f. exp. Path. und Pharm.*, 1931, t. CLIX, p. 180.
- JOLLES (A.). — Ueber eine neue Gallensäuren reaktion und über den Nachweis der Gallensäure im Harn. *Chem. Ztg.*, 1908, 32-917.
- JOLLES (A.). — *Ztschr. phys. Chem.*, 1908, 57, 30.
- JOLLES (A.). — *Ber. chem. Ges.*, 1908, 41, 2766.
- KATAYAMA (I.). — Bile acids in jaundice. *Arch. of int. Med.*, 1928, t. XLII, p. 916.
- KLEIN (Wikalaus). — Bilirubine et liquide céphalo-rachidien. *Journal de Physiologie*, 1932.
- KÜFFERATH. — Ueber die Anwesenheit der Gallensäurenim Blute nach dem Verschluss del Gallen-und des Milchbrustganges. *Arch. Anat. und Physiol. (Physiol. Abt.)* 1880, 92.
- LABBE (M.) et DOUMER (Ed.). — A propos des ictères dissociés. Le mécanisme de la cholalurie au cours des ictères prolongés. *Annales de Médecine*, t. XIV, 1923, p. 45.

- LAIGNÉL-LAVASTINE, BOQUIEN (Y.) et STERNE (J.). — Spirochétose ictéro-hémorragique compliquée de phlébite au décours de la maladie. *Bull. et Mém. de la Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 17 juin 1932, p. 1017.
- LONGEVIN (M. G.) et BRULÉ (M.). — Ictères syphilitiques secondaires avec rétention biliaire dissociée. Action du néo-salvarsan sur le foie. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 17 novembre 1916, p. 1851.
- LECOMTE DU NOÛY (P.). — Equilibres superficiels des solutions colloïdales. Études de biophysique moléculaire. Masson, Ed., 1929.
- LECOMTE DU NOÛY (P.). — Sur la capacité d'absorption des protéines du sérum vis-à-vis des sels biliaires. *C. R., Soc. de biol.*, 1928, t. XCIV, p. 1097.
- LECOMTE DU NOÛY. — Méthodes Physiques en Biologie et en Médecine. J. B. Baillière, édit., 1933.
- LEHMANN (C.C.). — Lehrbuch der physiologischen Chemie. Leipzig 2^e éd., 1850, t. I, p. 232.
- LEMIERRE (A.) et ABRAMI (L.). — Dissociation de la sécrétion biliaire au cours d'un ictère catarrhal. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 22 novembre 1912, p. 589.
- LEMIERRE (A.) et BRULÉ (M.). — La lipémie alimentaire dans les ictères. *Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 23 décembre 1910.
- LEMIERRE (A.) BRULÉ (M.), WEILL (André) et LAUDAT (M.). — L'examen chimique et ultra-microscopique du sang dans l'étude de l'absorption intestinale des graisses. Recherches cliniques et expérimentales sur le rôle du foie et du pancréas. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôpitaux Paris*, t. II, p. 72, 1913.
- LEMIERRE (A.) et BRULÉ (M.). — *Le Mouvement Médical*, mars 1913.
- LEMIERRE (A.), BRULÉ (M.) et GARBAN (H.). — Rétentions biliaires par lésion de la cellule hépatique. *Semaine Médicale*, 1^{er} juillet 1914, p. 301.
- LEMIERRE (A.), BRULÉ (M.) et WEIL. — L'épreuve des hémococonies. Son application à l'étude de la sécrétion biliaire et pancréatique. *Paris, Médical*, 6 juin 1914.
- LEMIERRE (A.) et LEVESQUE (Jean). — Rétention biliaire dissociée pendant la convalescence d'une spirochétose. Cholémie pigmentaire normale et cholurie simultanée. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 12 janvier 1923, p. 5.
- LYON-CAEN. — La tension superficielle. Son application à la différenciation des cholaluries et à l'étude du foie dans les ictères. Thèse Paris, 1910.
- MAXIMIN (M.). — Les injections intraveineuses de sels biliaires en pathologie hépatique. Etude clinique et expérimentale. Thèse de médecine, Paris, 1929.
- MEILLÈRE (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 26 avril 1913, t. LXXIV, p. 844.
- MEILLÈRE (G.). — Recherche et Caractérisation des Sels biliaires dans l'urine. *C. R. Soc. Biol.* 2 mai 1913.
- MEILLÈRE (G.). — Etude critique des procédés d'isolement des acides biliaires. *Journ. de Pharmacie et de Chimie*, 1922 7^e série, t. XXV, p. 417.
- MERKLEN (Prosper). — Dissociation pigmento-cholalique. *Le Monde Médical*, septembre 1917.

- MOLESCHOTT (J.). — Bilin im Blute. *Ztschr. f. ration. Med.*, 1847, t. XI, p. 387.
- MYLIUS (E.). — Zur Kenntniss der Pettenkofer'schen Reaktion. *Ztschr. physiol. Chem.*, 1887, 11, 492.
- NIRO ENDO. — Clinical and Experimental Studies on the Mutual Relationship among Bilirubin, Cholesterol and Bile Acids in the Blood. I. Clinical observation with an Appendix on the « Dissociated Jaundice ». Abstracts in : *The Japanese Journal of gastroenterology*, July 1931, Vol. III, n° 2, p. 173.
- NORERO. — Thèse Paris, 1908.
- PÉRLZWEIG (W. A.) and BARRON (E. G.). — New colorimetric Method for Determination of Bile Acids in Blood. *Proc. Soc. exp. Biolog. Med.*, 1926, t. XXIV, p. 233.
- PETTENKOFER (M. J.). — Notiz über eine neue Reaktion auf Gallen und Zucker. *Ann. Chem. Pharm.*, 1844, 52, 90.
- ROSENTHAL (F.) und WISLICKI (L.). — Ueber eine quantitative Bestimmung der Gallensäure im Blut. *Arch. f. exp. Path. und Pharm.*, t. CXVII, p. 8.
- ROSENTHAL (F.) und WISLICKI (L.). — Gallensäuren. Studien am ikterischen Menschen. *Klin. Woch.*, 1927, n° 17, p. 781.
- ROSENTHAL (F.). — Zur polarimetrischen Gallensäuren bestimmung in Körperflüssigkeiten und Organen. *Arch. f. exp. Path. und Pharm.*, 1930, t. CLVII, p. 165.
- ROSENTHAL (G.). — Vergleichendes über die Methoden zur Gallensäurebestimmung. *Ztschr. f. ges. exp. Med.*, 1930, t. LXXIV, p. 396.
- SCHALSCHA (K.) und LANDE (K.). — Ueber quantitative Gallensäurenuntersuchungen im Serum von Leberkranken. *Klin. Woch.*, 1927, n° 41, p. 1939.
- SONNIE MORET (Pierre). — De l'ictère franc dans la cirrhose bi-veineuse. Th. de Paris, 1910. Essai eur la Tension superficielle en médecine. Allcation au traitement de l'hypertention artérielle. Th. Paris, 1935.
- STERNE. — Thèse Paris, 1935.
- SZILARD (P.). — Eine kolorimetrische Methode zur quantitativen Bestimmung der Gallensauren Salze im Blute *Biochem. Ztschr.*, 1925, t. CLIC, p. 325.
- SZILARD (P.). — Eine neure kolorimetrische Methode zur quantitativen Bestimmung der Gallensauren Salze im Blute. *Biochem. Ztschr.*, 1926, t. CLXXIII, p. 440.
- TASHIRO (S.). — Determination of bile salts in the blood (Preliminary report). *Cincinnati J. Med.*, 1923, t. IV, p. 197, d'après Cuny.
- TASHIRO (S.). — A colorimetric Method of determination of bile salts in the blood. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, t. LXIII, p. 64.
- TASHIRO (S.). — Nature and Amount of Bile Salts in Normal Blood. *Amer. Journal of Physiol.*, 1929, t. XC, p. 538.
- TCHI-LIN-GUIRIAN. — Les méthodes de dosage des acides biliaries. Thèse Paris, 1925.
- THIERS (H.). — Valeur séméiologique de l'indoxylémie. *Journal de Méde-*

- cine de Lyon*, 20 avril 1931, p. 241 et *Journal Médical Français*, t. XXII, n° 7, juillet 1933, p. 243.
- TOUSSAINT (René). — Photocolorimétrie T. C. B. à mesures indépendantes de l'œil pour la mesure des couleurs dans l'industrie. *Bulletin de la Soc. d'encouragement pour l'industrie nationale*, juin 1927.
- TOUSSAINT (René). — La mesure de la fluorescence avec la cellule photo-électrique. *C. R. des Séances de l'Académie des Sciences*, 16 novembre 1931.
- TOUSSAINT (René). — La couleur, transformateur d'énergie, étude de la cellule photo-électrique. *Bull. de la Soc. d'encouragement pour l'industrie nationale*, mai 1932.
- TOUSSAINT (René). — La mesure des couleurs. *Bull. de la Soc. des Ingénieurs civils de France*, mai-juin 1932.
- UDRANSKY (L. von). — Ueber Furfuroreaktionen. *Ztsch. f. physiol., Chem.*, 1888, t. XII, p. 355-377.
- VILLE (J.) et DERIEN (E.). — Réactions colorées des sels biliaries avec la vanilline et avec l'aldéhyde anisique. *C. R. Soc. Biol.*, 1908, 64, 905.
- WALKER (E.). — The alleged presence of bile salts in normal blood. *Biochem. Journ.*, 1930, t. XXIV (2), p. 1489.
- WILLIAMS (J. W.). — Effects of sodium citrate on bile salt hemolysis. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 1930, t. XXVII, p. 913 ; Analyse in : *Journ. de Physiol. et Path. gén.*, 1931, t. XXIX, p. 636.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

Historique du dosage des acides biliaires dans le sang

CHAPITRE I. — <i>Vue d'ensemble sur les méthodes générales de recherche des sels biliaires</i>	5
I. — Méthodes extractives.....	5
II. — Méthodes basées sur les propriétés physiques des sels biliaires.....	6
III. — Méthodes basées sur un dosage chimique de l'acide cholalique ou des corps qui lui sont combinés	8
IV. — Méthodes colorimétriques.....	9
V. — Méthodes biologiques	11
CHAPITRE II. — <i>Les méthodes de dosage des sels biliaires appliquées au sang</i>	12
I. — Méthodes biologiques, physiques, gazométriques	12
II. — Méthodes colorimétriques.....	15
CHAPITRE III. — <i>Résultats</i>	26

DEUXIÈME PARTIE

La réaction phospho-vanillique

CHAPITRE I. — <i>Comment pratiquer la réaction phospho-vanillique</i> .	32
I. — Sur le sang	33
II. — Sur la bile	37
III. — Sur les tissus.....	38
CHAPITRE II. — <i>Etude de la réaction</i>	40
I. — Etude qualitative	40
II. — Etude quantitative.....	49
CHAPITRE III. — <i>Spécificité de la réaction phospho-vanillique</i>	55

TROISIÈME PARTIE

Etude clinique de la cholestémie

CHAPITRE I. — <i>La cholestémie à l'état physiologique</i>	59
CHAPITRE II. — <i>La cholestémie des ictériques</i>	63
I. — Ictères hémolytiques	64
II. — Ictères cholestatiques	65
III. — Ictères catarrhaux	73
IV. — Ictères infectieux	76
CHAPITRE III. — <i>La cholestémie des cirrhotiques</i>	80
I. — Cirrhoses atrophiques	80
II. — Cirrhoses hypertrophiques	81
III. — Cirrhoses ictérogènes	86
CHAPITRE IV. — <i>La cholestémie en dehors des ictères et des cirrhoses</i> ..	95

QUATRIÈME PARTIE

Répartition de l'acide cholalique dans les tissus et les humeurs

I. — Répartition dans les tissus	103
II. — Répartition dans le liquide céphalo-rachidien, et le suc pancréatique	107

CINQUIÈME PARTIE

Intérêt de l'étude de la cholestémie en pathologie hépatique

I. — Comment étudier la fonction cholalique	109
II. — Cholestémie et classification des ictères	111
III. — Valeur sémiologique de la cholestémie	116
CONCLUSIONS	120
BIBLIOGRAPHIE	123

